

**Die Einwirkung von Stoffwechselprodukten
isolierter Bodenpilze auf das Wachstum
von Gramineen (Testpflanze Zea mays).**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Die Einwirkung von
Stoffwechselprodukten isolierter Bodenpilze auf das
Wachstum von Gramineen (Testpflanze Zea mays).

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München



vorgelegt
von
Irmengard Langenmayr
aus München

Mai 1957

Berichterstatter 1.: Prof. Dr. R. Gisl
Berichterstatter 2.: Prof. Dr. L. Brauner
Tag der mündlichen Prüfung: 31.7.57

Inhaltsverzeichnis

Einleitung

Seite

Seite

1. Teil

Vorbereitung der Vorlesung

1. Darstellung des Films

2. Darstellung des Films

3. Zusammenfassung

4. Zusammenfassung

5. Zusammenfassung des Films und zusammenfassende
zusammenfassende Zusammenfassungen

6. Zusammenfassung

7. Zusammenfassung

8. Zusammenfassung des Films

9. Zusammenfassung des Films

10. Zusammenfassung des Films

11. Zusammenfassung des Films

12. Zusammenfassung des Films

13. Zusammenfassung des Films

14. Zusammenfassung

Besonderer Dank gilt meinem hochverehrten Lehrer,
Herrn Prof. Dr. R. Gistl, für die Möglichkeit der
Ausführung dieser Arbeit an seinem Institut, für
die Überlassung des Themas und für seine stets
gütige Hilfe.

Herzlichen Dank schulde ich auch Fräulein
Dr. L. Lamprecht für zahlreiche Anregungen und
Hinweise sowie für das Interesse, das sie meiner
Arbeit jederzeit entgegenbrachte.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	Seite
Methodik	

1. Teil

Versuchsbeschreibungen und Versuchsvorbereitungen

I. Gewinnung der Pilze	1
II. Bestimmung der Pilze	2
A) Phycomycetes	
B) Ascomycetes	
III. Verhaltensweise der Pilze auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen	15
A) Phycomycetes	
B) Ascomycetes	
IV. Auswahl der Pilze	32
V. Auswahl der Pilznährlösung	34
VI. Beschreibung der Versuchsanordnung	35
A) Gewinnung der Pilzfiltrate	
B) Anzucht von Mais	
C) Vorbereitungen für die Wachstumsversuche	
D) Messungen, Mittelwert, Streuwert.	

2. Teil

Wachstumsversuche

I. Aspergillus niger (Testversuch)	41
A) Untersuchung der allgemeinen Versuchsbedingungen	
B) Versuchsanordnung	
C) Quantitative Ergebnisse	
D) Versuche mit Filtraten geringerer Wasserstoffionenkonzentration	
II. Verticillium glaucum	55
III. Blastotrichum puccinoides var. x	57

	Seite
IV. Cladosporium herberum	61
V. Stemphylium botryosum var. botrytis	63
VI. Fusarium oxysporum	64
VII. Mucor racemosus	69
VIII. Diskussion der Ergebnisse	71
Zusammenfassung	77

I. Aspergillus niger (Wachstum)	77
A) Bestimmung des Wachstums	77
B) Wachstumsbedingungen	77
C) Wachstumsbedingungen	77
D) Wachstumsbedingungen	77
E) Wachstumsbedingungen	77
F) Wachstumsbedingungen	77
G) Wachstumsbedingungen	77
H) Wachstumsbedingungen	77
I) Wachstumsbedingungen	77
J) Wachstumsbedingungen	77
K) Wachstumsbedingungen	77
L) Wachstumsbedingungen	77
M) Wachstumsbedingungen	77
N) Wachstumsbedingungen	77
O) Wachstumsbedingungen	77
P) Wachstumsbedingungen	77
Q) Wachstumsbedingungen	77
R) Wachstumsbedingungen	77
S) Wachstumsbedingungen	77
T) Wachstumsbedingungen	77
U) Wachstumsbedingungen	77
V) Wachstumsbedingungen	77
W) Wachstumsbedingungen	77
X) Wachstumsbedingungen	77
Y) Wachstumsbedingungen	77
Z) Wachstumsbedingungen	77

E i n l e i t u n g

Die nachstehenden Untersuchungen befassen sich mit der Frage, ob und in welcher Weise Kulturfiltrate isolierter Bodenpilze das Wachstum der höheren Pflanze zu beeinflussen vermögen. Wenn auch auf diesem Gebiete schon zahlreiche Arbeiten vorliegen, so beschränken sie sich jedoch zum großen Teil auf Pilze, die zu der höheren Pflanze in einem bestimmten parasitären Verhältnis stehen. Dies trifft in besonderem Maße für die Erreger der Welkekrankheit, Pilze der Gattung *Fusarium*, zu. Bereits im Jahre 1899 wurden von Smith, 1902 von Orton Untersuchungen über die Welkekrankheit durchgeführt, denen zahlreiche Arbeiten auf diesem Gebiete folgen sollten. Aus der Fülle der Literaturangaben seien hier nur die Namen Schikorra (1906), Bewley (1922), M. Lüdtko und Hikmet Achmet (1932), Hikmet Achmet (1933), C. Thomas (1949), Scheffer und Walker (1953), W. Gerlach (1954), Kalyanasaindarain und Lakshminarayana (1953) in Erwähnung gebracht. In neuerer Zeit machten sich insbesondere Gäumann und Mitarbeiter um dieses Problem verdient (Veröffentlichungen 1944 - 1954). Sie untersuchten in umfangreichen Arbeiten die toxischen und mechanischen Schädigungen, die die Pilze an ihren Wirtspflanzen hervorrufen. Besonderer Erwähnung bedarf, daß die Stoffwechselprodukte von *Fusarium* nicht nur spezifisch auf die Wirtspflanze einwirken, sondern in einigen Versuchen (White, Brandes, Gäumann) auch solche Pflanzen mehr oder weniger schädigen konnten, die außerhalb des Wirtspflanzenbereiches liegen.

Brandenburg (1948) konnte feststellen, daß Pilze der Gattung *Pythium*, dem Erreger des Wurzelbrandes der Rüben, toxische Stoffwechselprodukte ausscheiden, die eine Verfärbung der Gefäße und ein charakteristisches Krankheitsbild an den Blättern verursachen. Filtrate von *Pythium*, auf Rübenblätter gebracht, bewirken auch nach Likais (1952/53) Nekrosen und Welkeerscheinungen, ähnlich den durch *Fusarium* verursachten Schädigungen.

Versuche mit Stoffwechselprodukten von *Nectria cinnabarina*,

dem Erreger der Rotpustelkrankheit, führte F. Kobel (1951) durch. Während Tomatenblätter auf den Nectria-Welkestoff nur schlecht ansprechen, löst er dagegen bei abgeschnittenen Johannisbeerzweigen Schlaffheit und Welkenekrosen aus. Noch empfindlicher reagieren Bohnen. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch W. Sauthoff (1955), der abgeschnittene Sprosse von *Pisum sativum* und *Gossypium* in Kulturfiltrate von *Botrytis cinerea* einstellte, einem fakultativen Parasiten, der zwischen den Zellwänden lebt und deren Mittellamelle auflöst.

Der Vollständigkeit halber soll noch erwähnt werden, daß auch Bakterienfiltrate das Wachstum höherer Pflanzen beeinträchtigen können. Kandler (1951) konnte allerdings in geringsten Konzentrationen Förderung bei in vitro kultivierten Maiswurzeln feststellen, was der Verfasser auf die Anwesenheit von β -Indolylessigsäure zurückführt. Stolp (1952) konnte in ähnlichen Versuchen nur eine Hemmung erzielen.

In den zitierten Versuchen arbeiteten die Verfasser nach drei verschiedenen Methoden:

1. Einstellen des Sprosses in das Kulturfiltrat.
2. Einwirken des Kulturfiltrates auf abgeschnittene, in vitro kultivierte Wurzeln.
3. Beimpfen des der höheren Pflanze gebotenen Erdreiches mit Pilzsporen.

Im Gegensatz dazu soll hier der Versuch unternommen werden, die Einwirkung der Kulturfiltrate verschiedener Bodenpilze auf die ganze Keimpflanze zu untersuchen. Wie bereits angedeutet, befaßt sich die vorliegende Arbeit in der Hauptsache mit Kulturfiltraten solcher Pilze, die saprophytisch im Boden leben. Eine Ausnahme hierbei machen sowohl *Fusarium oxysporum*, das nach Wollenweber einen ausgedehnten Wirtspflanzenbereich hat und nach Gäumann zu den Welkeerregern gerechnet wird, als auch *Cladosporium herbarum*. Letzteres kann unter Umständen als sogenannter Altersparasit ein gefährlicher Getreideschädling sein, der die "Schwärze" des Getreides verursacht.

Methodik

Die Arbeit gliedert sich in folgende Hauptabschnitte:

1. Züchtung und Bestimmung der Pilze
2. Verhaltensweise der Pilze auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen.
3. Gewinnung der Stoffwechselprodukte
4. Einbringen der höheren Pflanze in die mit Kulturfiltrat versetzte Nährlösung
5. Auswertung des Pflanzenmaterials.

Die aus dem Erdboden isolierten Pilze wurden auf Würzeagar kultiviert und bestimmt. Die Bestimmung ergab drei Vertreter der Klasse Phycomycetes und neun Vertreter der Klasse Ascomycetes, wobei mit Ausnahme der Stilbaceae alle Familien der Ascomycetes mit wenigstens zwei Exemplaren isoliert werden konnten.

Zur Gewinnung der Stoffwechselprodukte wurden die Pilze auf synthetischer Nährlösung gezogen. Um ein für deren Entwicklung möglichst gutes Nährmedium zu ermitteln, wurden sie auf drei verschiedenen Nährlösungen kultiviert. Zur Anwendung kamen: zwei physiologisch alkalische Lösungen (Nährlösung nach Czapek-Dox, $p_H = 6,2$; Nährlösung nach Czapek-Thom, $p_H = 6,5$) und eine physiologisch saure (Nährlösung nach Raulin, $p_H = 3,5$).

Wie später noch zu ersehen ist, erwies sich die Durchführung jedes einzelnen Versuches als äußerst zeitraubend und mühselig. Deshalb konnten nicht alle isolierten Pilze für die Untersuchungen herangezogen werden, sondern es wurde eine bestimmte Auswahl getroffen, die sich auf verschiedene systematische Einordnung, Verbreitung und Stoffwechseltätigkeit bezog. Gewählt wurden folgende Pilze: *Mucor racemosus*, *Aspergillus niger*, *Verticillium glaucum*, *Blastotrichum puccinoides*, *Cladosporium herbarum*, *Stemphylium botryosum* var. *botrytis* und *Fusarium oxysporum*. Sie wurden auf der für ihre Entwicklung günstigsten Nährlösung (Czapek-Dox) bis zur Ausbildung einer

kräftigen Pilzdecke gezogen. Anschließend folgte die Trennung der Pilzdecke von ihrer Kulturflüssigkeit.

Als Testpflanze diente Mais und zwar die Sorte "badischer Landmais". Die in Keimschalen gezogenen Maispflänzchen wurden in Knopsche Nährlösung übergeführt und das Pilzstoffwechselprodukt in verschiedenen Konzentrationen zupipettiert. Die Kontrollpflanzen erhielten je 5 ccm des unbewachsenen Pilznährsubstrates.

Nach 10 - 12tägigem Wachstum wurden die Versuche nach folgenden Gesichtspunkten ausgewertet: Länge der Hauptwurzel, Länge der Seitenwurzeln, Anzahl der Seitenwurzeln, Länge des Sprosses, Länge der ganzen Pflanze, Länge der Blätter, Anzahl der Blätter; Bestimmung der Frisch- und Trockengewichte. Im Testversuch, zu dem *Aspergillus niger* als hervorragend bekannter Organismus herangezogen wurde, ist die genaue Anordnung des Versuches und dessen Ablauf beschrieben, so wie er auch bei den übrigen Pilzen durchgeführt wurde. An Hand der Versuchsergebnisse von *Aspergillus niger* soll aufgezeigt werden, welche Betrachtungsweisen und welche Schlüsse bei der Auswertung der Versuche möglich sind.

1. Teil

I. Gewinnung der Pilze

Im Besonderen kam es darauf an, Pilze mit weiter Verbreitung und reger Stoffwechseltätigkeit zu den Versuchen heranzuziehen. Deshalb wurden sie aus dem Boden isoliert. Diese Methode gewährleistet einerseits frisches Material, welches stets eine lebhaftere Stoffwechseltätigkeit entwickelt als über längere Zeit im Laboratorium gezüchtetes. Andererseits kann man mit Bestimmtheit annehmen, allgemein verbreitete Organismen zu erfassen.

Die Erdproben entstammten einem Humushaufen des Botanischen Gartens München und einem Wiesenboden in München. Sie wurden dem Erdreich in einer Tiefe von ca. 5 cm entnommen und in sterile Gläserchen überführt. Die Wasserstoffionenkonzentration wurde mit Hilfe des Merckschen Universalindikators gemessen und ergab beim Humusboden einen p_H -Wert von 6,5, beim Wiesenboden einen p_H -Wert von 6,9. Zur Gewinnung der Rohkulturen wurden zwei Wege beschritten:

1. 5 ccm der Erde wurden in 25 ccm steriles Wasser gegeben, 24 Stunden stehen gelassen und danach zusammen mit flüssigem Agar in sterile Petrischalen gegossen.
2. Das zweite Verfahren beschränkte sich auf das direkte Auslegen von Erdpartikelchen auf den Agar.

Bereits zwei Tage später entwickelten sich die ersten Pilzkolonien, die sofort in Reagensröhrchen mit schräg erstarrtem Bierwürzeagar übergeimpft wurden. Die Reinkulturen wurden entweder durch dauerndes Überimpfen, durch Verdünnungsverfahren (Verdünnung des Ausgangsmaterials in Wasser) oder durch Einsporkulturen gewonnen. Letztere wurden folgendermaßen hergestellt: Die zu isolierende Mikrobenart wurde in Bierwürze aufgeschwemmt und zahlreiche Tröpfchen mittels einer abgeflamnten Tuschefeder auf ein steriles Deckgläschen gebracht. Die Verdünnung mußte so weitgehend sein, daß ein Tröpfchen jeweils

nur eine einzige Zelle enthielt. Das Deckglas wurde mit den Tröpfchen nach unten auf einen sterilen Nohl-schliffobjektträger gelegt und mit Glycerin verschlossen. Nach einigen Tagen keimt die Zelle aus, die dann mit Hilfe einer sterilen Filtrierpapierstrecke auf den Nährboden übertragen werden kann.

Humusboden und Wiesenboden zeigten gemeinsam: *Rhizopus nigricans*, *Mucor racemosus*, *Aspergillus niger*, *Verticillium glaucum*. Darüber hinaus konnten aus Humusboden: *Verticillium affine*, *Elastotrichum puccinoides*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, aus Wiesenboden: *Mucor hiemalis*, *Periconia thebaica*, *Stemonium botryosum* var. *botrytis*, *Fusarium flocciferum* isoliert werden.

Auf die Weiterzüchtung von Hefen und Penicillien, die in beiden Böden reichlich vertreten waren, wurde verzichtet.

II. Bestimmung der Pilze

Die Bestimmung wurde an Pilzen vorgenommen, die auf Bierwürze-agar gewachsen sind. Alle Pilze wurden bei diffusem Tageslicht und bei Zimmertemperatur (durchschnittlich 22°C, je nach Lüftung etwas schwankend) gezogen. Zur Bestimmung wurden die Werke von Zycha¹⁾, Rabenhorst²⁾, Lembke³⁾, Kollenwaber und Reinking⁴⁾ benutzt.

1. Phycomycetes

Die Phycomyceten unterscheiden sich von den Ascomyceten in der Hauptsache durch ihr unseptiertes Myzel, welches in Ausnahmen, wie bei Verletzungen, im Alter oder bei Bildung der Fortpflanzungsorgane sog. Kammerungswände ausbildet.

1. Rhizopus nigricans

Einteilung:

Bestimmung nach Rabenhorst

Reihe: Zygomyzetes

Ordnung: Mucorineae

Familie: Mucoraceae

Makroskopisches Bild: Die außerordentlich raschwüchsige Pilzkultur ist Anfangs rein weiß. Bereits nach einigen Tagen erfolgt Ausbildung der schwarzen Sporangien.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel ist kräftig, verzweigt und weist eine Breite von ca. 6μ auf (Abb. 1 K). Es bildet Ausläufer, sog. Stolonen aus (Abb. 1 A,C), an denen sich in Intervallen Knoten mit Haftwurzeln, den Rhizoiden, entwickeln (Abb. 1 A,B). Hier entspringen die bis zu 20μ breiten Sporangienträger, welche die anfänglich weißen, zumeist in Büscheln stehenden Sporangien tragen (Abb. 1 A,C). Letztere sind je nach Alter verschieden groß, durchschnittlich $120 - 150\mu$. Den Übergang vom Träger zum Sporangium bildet die Apophyse, durch deren Vorhandensein das Sporangium nicht mehr genau kugelig ist, sondern zumeist etwas breiter als hoch (Abb. 1 E). Charakteristisch ist die sehr große Columella. Bei *Rhizopus nigricans* ist sie in intaktem Zustand kugelig und oft mit festklebenden Sporen bedeckt (Abb. 1 F). Infolge des schwindenden Turgordrucks der Columella fällt diese vielfach bei Einbringen in Wasser in sich zusammen, d.h. sie stülpt sich über die Apophyse, sodaß sie das Aussehen eines Hutpilzes gewinnt (Abb. 1 DI-III). Größe der Columella: $50-90\mu$ breit, $60-75\mu$ hoch (Angaben von Rabenhorst: $60-100\mu$ breit, $40-75\mu$ hoch). Die Sporangienmembran ist sehr zart und zerfließt leicht, sodaß die Sporen mühelos ins Freie gelangen können. Die Sporen haben eine Größe von $2-9\mu$ Länge, $3-6\mu$ Breite. (Rabenhorst: Für *Rhizopus nigricans* $6-17\mu$, für *Rhizopus arrhizus* $4,8-7\mu$ Länge, $4,8-5,6\mu$ Breite). Sie sind unregelmäßig rundlich, drei- oder viereckig, stets mit abgerundeten Ecken und dicker Membran. Vielfach weisen sie randparallele Streifung auf (Abb. 1 G). Abbildung 1 H zeigt eine gekeimte Spore. Bei der Keimung quillt diese stark auf, vergrößert sich auf ein Vielfaches und treibt ein oder mehrere Keimschläuche.

Interkalare ein- und mehrzellige Gemmen waren vereinzelt in den verschiedenen Kulturen zu beobachten (Abb. 1J).

Standort: In Erde und Luft weit verbreitet. Häufiger Fäulnis-erreger von Früchten.

2. Mucor hiemalis

Einteilung:

Bestimmung nach Zycha.

Wie bei *Rhizopus nigricans*

Sectio: hiemalis

Makroskopisches Bild: Sehr schnellwüchsig, anfänglich weißes, langfaseriges Myzel, das sich später ins Gelbliche verfärbt. Man unterscheidet nach der Farbe des Rasens weiße, gelbe und graue Rassen⁵⁾. Die Farbe soll nur auf Brot oder Malzpepton-nährböden deutlich hervortreten¹⁾.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel ist sehr kräftig, 6-12 μ breit querwandlos und weist vielfach starke Verästelungen auf (Abb. 1). Junge Hyphen sind von gekörntem Plasma erfüllt, ältere sind vielfach hyalin und reich an Öltropfen. Bei letzteren treten in der Regel Querwände auf (Abb. 2C). Unter ungünstigen Lebensbedingungen konnten Kümmerformen beobachtet werden (Abb. 2). Junge Hyphen verändern bei Einbringen in Wasser infolge des veränderten Turgordrucks teilweise ihre Gestalt, sodaß beispielsweise am oberen Ende Gabelungen entstehen (Abb. 2D). Abb. 2E zeigt die Entwicklung zum Sporangium. Eine Hyphe schwillt an ihrem oberen Ende kopfig zum Sporangium an, welches im Laufe des Wachstums eine Größe von 30-50 μ Breite und 30-45 μ Länge erreicht. (Ergebnis aus 20 Messungen). Zycha gibt eine Größe von 50-85 μ , meist 60 μ an. Die von Zycha beschriebenen, in älteren Kulturen auftretenden verzweigten Sporangienträger konnten nicht beobachtet werden. Die hyaline Columella ist rund bis birnenförmig, oft nach unten etwas schmaler werdend. Der unzerflossene Rest der Sporangienwand bleibt vielfach an der Basis als Basalkragen erhalten (Abb. 2H). Bei ganz jungen Kulturen sieht man die Columella durch die Sporangienwand schimmern, sodaß der Eindruck einer sporenerfüllten Columella entsteht (Abb. 2F). Der Sporangienträger hat eine Breite von 10-15 μ und verzweigt sich vielfach zum Sporangium hin (Abb. 2G). Die in Massen auftretenden Sporen sind länglich, nieren- oder eiförmig, 4-12 μ lang, 3-5 μ breit.

(Abb. 2J). Zahlreich ist die Bildung von Gemmen. Sie entstehen sowohl terminal als auch interkalar, sind ein- und zweizellig, seltener in Ketten und speichern reichlich Fett (Abb. 2 K,L,M). Auch Riesenzellen konnten beobachtet werden. Sie bilden sich infolge schlechter Lebensbedingungen als blasenförmige Anschwellungen der Hyphen, z.B. durch Übersäuerung der Nährlösung⁶⁾, durch Fehlen von spezifischer Nährstoffzufuhr oder durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten, die nicht abgeführt werden können. Im Gegensatz zu den Gemmen sind sie nicht durch eine Querwand von der Zelle getrennt und speichern kein Fett (Abb. 2N). Besonders häufig treten Riesenzellen in synthetischen Nährlösungen auf.

Bei Beimpfen einer Petrischale mit einem + und einem - Stamm wachsen die beiden physiologisch verschieden gerichteten Myzelien aufeinander zu und verschmelzen zu den Zygoten, die als schwarze, deutlich erkennbare Trennungslinie zwischen den beiden Stämmen sichtbar wird. Größe der Zygoten: 40-90 μ , schwarz mit buckliger Membran (Abb. 20).

Standort: Saprophytisch auf pflanzlichen und tierischen Resten. Sehr verbreitet im Waldboden.

In der Kultur ist der Pilz sehr empfindlich, sehr abhängig von Belichtung, Luftfeuchtigkeit und Nährstoffgaben. Eine regelmäßige Abimpfung mindestens alle zwei Monate ist dringendst geboten.

3. Mucor racemosus

Einteilung:

Bestimmung nach Rabenhorst.

Wie bei *Rhizopus nigricans*

Sectio: Racemo-Mucor

Makroskopisches Bild: Der Pilz ist raschwüchsig. Das langfaserige, dichte, seidige Myzel bildet gemeinsam mit den Konidienträgern weiße, später graue oder braune Rasen.

Mikroskopisches Bild: Die racemösen Verzweigungen von *Mucor racemosus* sind unregelmässig und in jungen Kulturen weniger stark ausgebildet. Die Aste enden mit Sporangien. Die Seitenäste sind teilweise nochmals verzweigt, kurz oder lang und über den Ansatzstellen meist septiert (Abb. 3F). Die Größe der Spo-

rangien schwankt zwischen 20 und 70 μ . Die Columella ist kugelig (Abb. 3 B) bis verkehrt eiförmig (Abb. 3 C) oder breit glockig (Abb. 3 A), vielfach mit Kragenrest versehen, mit farblosem Inhalt und glatter Membran. Größe: 25-50 μ lang, 18-40 μ breit. Das Myzel ist kräftig, das Plasma fein granuliert und oft mit Öltropfen erfüllt. Die Sporen sind zumeist kugelig oder länglich, 5-8 μ (3-10 μ) groß (Abb. 3 D), glatt, einzeln farblos, zu vielen gelblich. Gemmen sind in großer Anzahl vertreten. Sie sind ein-, zwei-, dreizellig oder kettenbildend, interkalar oder terminal. Ihre Gestalt ist rund, oval oder rechteckig, in der Regel 12-25 μ lang, 10-20 μ breit, reich an Reservefett und mit kräftiger Membran (Abb. 3 G,H,J).

Standort: Sehr häufig vertreten. Niethammer⁵⁾ rechnet ihn zu den Kosmopoliten. Hauptsächlich in der Erde und auf Pferdemist, auf süßen Früchten, vermoderten Pflanzenteilen verbreitet.

B. Ascomycetes

1. Aspergillus niger

Einteilung:

Bestimmung nach Rabenhorst

Ordnung : Hyphomycetes
Familie : Mucedinaceae
Abteilung : Hyalosporae
Untersabt. : Aspergilleae
Sectio : Euglobosus

Die Gattung *Aspergillus* teilt sich in drei Sectiones, die sich in der Art, wie der Übergang von der Endblase zum Konidienträger stattfindet, unterscheiden.

Bei *Aspergillus niger* ist die Blase rund und scharf vom Stiel abgesetzt.

Makroskopisches Bild: Dieser bekannte und vielfach untersuchte Vertreter der Gattung *Aspergillus* ist leicht zu erkennen an den schwarzbraunen Konidien bzw. Konidienträgern, die dem Rasen ein samtartiges Aussehen verleihen. Das anfanglich weiße, später gelbe Myzel wird schon nach kurzer Zeit von den schwarzen Sporenmassen fast vollkommen verdrängt.

Dieses Bild zeigt sich auch mikroskopisch: Zwischen zahllosen Konidien und Konidienträgern ist nur vereinzelt Myzel sichtbar. Das Myzel ist 3-8 μ breit, stark septiert und stark verzweigt. Die von ihm abgehenden Nebenäste sind bedeutend zarter, 2-3 μ breit, sowie wenig verzweigt und septiert (Abb. 4D). Die Konidienträger heben sich scharf vom Myzel ab. Sie besitzen eine sehr starke Membran, sind glatt, ungeteilt und 12-18 μ breit. Vielfach weisen sie eine gelbe Farbe auf. Die verschiedenen Entwicklungsstadien eines Konidienträgers können im mikroskopischen Präparat einer sehr jungen Kultur beobachtet werden (Abb. 4 A, I-V). Ein Hyphenast verbreitert sich an der Spitze und bildet allmählich ein kugeliges Gebilde aus, die Endblase mit den primären und sekundären Sterigmen, an denen exogen die Konidien in Ketten entstehen (Abb. 4B). Die Größe des fertig ausgebildeten Konidienträgers beträgt ca. 80 μ . Die Konidien sind schwarz, rund, 2,5-4,5 μ $\emptyset$, mit kräftiger Membran (Abb. 4C). Chlamydo-sporen wurden nicht beobachtet.

Standort: Weitverbreiteter Bodenpilz. Kommt vor allem auf faulenden Pflanzenteilen vor.

Besonders bekannt durch seine physiologischen Leistungen. Er bildet aus Zucker durch oxydative Gärungen organische Säuren wie Glucon-, Zitronen-, Oxal-, Äpfel-, Fumarsäure.

2. Verticillium glaucum

Einteilung:

Ordnung : Hyphomycetes

Familie : Mucedinaceae

Abteilg.: Hyalosporae

U.Abt. : Verticilliae

Bestimmung nach Rabenhorst.

Die Verticilliae gehören als

Nebenfruchtform zu den Nectria- oder Hyphomycetesarten.

Makroskopisches Bild: Anfänglich weiße (schleimige) Myzellager, die nach ca. 8 Tagen von einer dicken, gelblich-weißen, in der Hauptsache tiefgrünen Sporenschicht überzogen werden. Der Pilz ist sehr schnellwüchsig.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel ist 2-3 μ breit. Die Konidienträger sind um ein Geringes kraftiger, 3-4 μ breit und zumeist nur in Tröpfchenkulturen unbeschädigt zu sehen, da die Sporen bei Überbringen auf den Objektträger sofort abfallen. Sie

lassen einen deutlichen Hauptstamm erkennen, der vielfach verzweigt ist. Die Äste 1. Ordnung stehen vereinzelt oder quirlig. Am Grunde etwas angeschwollen, verjüngen sie sich nach der Spitze an der einzeln die Sporen sitzen (Abb. 5 A,B). Die Konidien sind rund oder länglich, 2-4 μ groß, stets ohne Öltropfen wie das Myzel (Abb. 5C). In alten Kulturen (ca. 5 Monate alt), sowie auf synthetischer Nährlösung wurden reichlich Chlamydosporen beobachtet. Während Niethammer⁷⁾ vereinzelttes Auftreten von Chlamydosporen für Verticillien angibt, fehlen sie in den Beschreibungen von Rabenhorst. Infolge ihrer doppelten Wand (die eine zur Membran gehörend, die andere das Plasma abgrenzend) waren die Chlamydosporen deutlich zu identifizieren. Sie sind zumeist interkalar, seltener terminal, 5-7 μ breit, 6-9 μ lang, ein- oder zweizellig, mit deutlich sichtbaren Fetteinschlüssen (Abb. 5D). Manche Myzelfäden sind außerordentlich reich an Chlamydosporen, die jedoch nie Ketten bilden, sondern stets durch Myzelfäden voneinander getrennt sind. Auch Riesenzellen konnten in reicher Zahl beobachtet werden (Abb. 5E).

Standort: Weit verbreiteter Bodenpilz.

3. Verticillium affine

Einteilung:

Bestimmung nach Rabenhorst

Wie bei Verticillium glaucum

Makroskopisches Bild: Rasen anfangs weißlich, verfärbt sich nach wenigen Tagen ins Lachsfarbene. Eine drei Wochen alte Kultur ist ziegelrot. Rasen wollig, alte Kulturen staubig. Der Pilz wächst relativ langsam.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel wird fast vollkommen von den ungewöhnlich zahlreichen, rotgefärbten Sporen verdrängt. Erstes ist sehr zart, farblos, ca. 2 μ breit, septiert, verzweigt und in älteren Kulturen reich an Öltropfen. Die Konidienträger stehen dicht beisammen, sind 3-3,5 μ breit, kräftiger septiert als das Myzel und rot gefärbt. Vom Hauptast gehen quirlständige Seitenäste ab, von denen wiederum 2-4gliedrige quirle entspringen, die unter der Insertionsstelle eine Scheidewand tragen. Die Seitenquirle sind an der Basis angeschwollen und nach vorne zugespitzt (Abb. 6A). Die Sporen sind regelmäßig, sehr klein.

im Durchschnitt 2-3 μ breit, 3-4 μ lang, selten bis 7 μ lang, elliptisch und in älteren Kulturen reich an Öltropfen (Abb. 6E). Sie stehen einzeln an den Astspitzen. Chlamydosporen wurden nie beobachtet.

4. Blastotrichum puccinoides var. X

Einteilung:

Bestimmung nach Rabenhorst

Ordnung : Hyphomycetes

Familie : Mucedinaceae

Abteilg.: Hyalophragmiae

Der Pilz wurde eindeutig als Blastotrichum puccinoides bestimmt, da er dem Habitus nach den Angaben Rabenhorsts entsprach. Er erhielt aber infolge seiner geringeren Sporengröße und seines zarteren Myzels die Beifügung "var. X".

Makroskopisches Bild: Das Myzel des schnellwüchsigen Pilzes ist flockig, zuerst weiß, später ins Bräunlich-Schwarze bis Grünliche übergehend. Auch rote Farbtöne sind vereinzelt zu verzeichnen. Die Ränder der Kultur sind vielfach weiß.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel ist septiert, unregelmäßig und reich verzweigt. Die Hyphendicke ist bei Rabenhorst mit 7-10 μ angegeben, bei dem hier isolierten Pilz erreichte sie jedoch höchstens eine Breite von 5 μ . Die Konidienträger sind noch nicht differenziert, Myzeläste übernehmen ihre Funktion (Abb. 7 A,C). Die Konidien sitzen an kurzen Seitenzweigen, sind zuerst hyalin, später bräunlich gefärbt und weisen gewisse Ähnlichkeit mit den Teleutosporen von Puccinia graminis (Name!) auf. In der Jugend sind sie ein- und zweizellig, später in der Hauptsache zwei- und dreizellig (Abb. 7 D). Rabenhorst gibt auch Vierzelligkeit an, die hier aber nur in Ausnahmefällen beobachtet werden konnte. Die Membran ist bei ganz jungen Konidien glatt (Abb. 7 A,B) und wird später stark warzig (Abb. 7D). Die Sporengröße schwankt zwischen (18-30)x(9-16) μ . Nach den Angaben von Rabenhorst (55-70)x(35-40) μ . Die mittlere Sporenzelle ist bei dreizelligen Sporen teilweise größer als die beiden äußeren. Die Seitenzweige mit den daran sitzenden Konidien sind in jungen Kulturen hervorragend zu sehen.

Chlamydosporen wurden nicht beobachtet.

Standort: Wenig verbreiteter Bodenzpilz.

5. Periconia thebaica

Einteilung:

Bestimmung nach Rabenhorst

Ordnung : Hyphomycetes

Familie : Dematiaceae

Abteilg.: Phaeosporae

U.Abt. : Periconieae

Makroskopisches Bild: Der Pilz ist relativ raschwüchsig. Er bildet anfänglich ein weißes, flockiges Myzel aus. Durch das Auftreten der schwarzen Sporen nach ca. 14 Tagen wird eine langsame Verfärbung der Kultur ins Gräulich-Weiße bewirkt. Alte Kulturen lassen zwischen weißem Myzel harte, schwarze, zusammengeballte Sporenmassen erkennen.

Mikroskopisches Bild: *Periconia thebaica* macht einen äußerst zarten Eindruck. Das Myzel ist in der Hauptsache sehr dünnfädig 2-3 μ breit, kaum septiert und wenig verzweigt (Abb. 9 DI). Daneben sieht man vereinzelt etwas kräftigere Hyphen, die septiert sind und eine Breite von 4,5 μ aufweisen (Abb. 9 D). Konidienträger sind nur in ganz jungen Kulturen vereinzelt zu sehen. Sie sind sehr zart, fast unseptiert, teilweise verzweigt, durchschnittlich 10 - 20 μ , in Ausnahmen 3-30 μ hoch (Abb. 9 A,B). Teilweise an der Basis aufgeblasen, verzweigen sie sich zumeist nach oben. Konidienbildung findet frühestens nach 14 Tagen statt. Die Konidien sind anfänglich hyalin, werden aber bald braun-schwarz. Sie sind kugelig bis eiförmig, der Spitze der Träger gehäuft und bilden ein wenigsporiges Köpfchen (meist aus 4-9 Sporen bestehend). Die Sporen enthalten reichlich Reservefett, nicht selten ist fast die ganze Spore davon erfüllt (Abb. 9 C II). Die Sporengröße schwankt zwischen 5,6 und 6,5 μ . In seltenen Fällen sieht man längliche Sporen 15-20 μ lang, ca. 4 μ breit, von teilweise fast gurkenförmig Aussehen (Abb. 9 C I). Chlamydosporen wurden nie beobachtet.

Standort: Wenig verbreiteter Bodenzpilz.

6. Cladosporium herbarum

<u>Einteilung:</u>	Bestimmung nach Rabenhorst.
Ordnung : Hyphomycetes	Wird auch Schwärzeschimmel
Familie : Dematiaceae	genannt.
Abteilg.: Phaeodidymae	
U.Abt. : Cladosporiae	

Makroskopisches Bild: Die Farbe der Kultur schwankt sehr. Das Myzel ist anfänglich weiß und verfärbt sich dann langsam ins Grünsschwarze. Bei jüngeren Pilzkulturen ist der grünsschwarze Pilzrasen vielfach von einem weißen, feinen Luftmyzel bedeckt, welches die Kultur wie Reif überzieht. Alte Kulturen werden grauschwarz oder sogar bräunlich und verschmelzen mit dem Agar zu harten, bröckeligen Massen. Die Rückseite der Kultur ist tiefschwarz gefärbt. Der Pilz wächst radial konzentrisch.

Mikroskopisches Bild: Die sterilen Hyphen sind zart, farblos, fettspeichernd und ca. 2 μ breit. Das konidienträgerbildende Myzel ist gelbbraun gefärbt, reichlich septiert und ca. 5 μ dick. Es ist wenig verzweigt, dickwandig, und, da am Ende weiterwachsend, knorrig-höckrig. Am interessantesten sind die Sporen. Sie entstehen in Ketten an nebeneinanderliegenden Trägern endständig oder seitenständig auf stumpfen Höckern. Die Konidien bilden sich langsam und treten in relativ geringer Anzahl auf. Sie sind von großer Vielgestaltigkeit, da abgebrochene Konidienträger, d.h. Konidienträgerteilstücke zu Sporen auskeimen können (Abb. 10 D). Meist sind sie gelbbraun gefärbt, einzellig, länglich oder eiförmig, vielfach an einer Seite zu einer Spitze ausgezogen (polare Papillen) und dadurch zitronenförmig. Daneben existieren auch 2-4zellige Formen, länglich, vielfach mit abgerundeten Ecken, auch hier öfters in eine Spitz ausgehend. Teilweise sind die Zellen in der Mitte eingebogen oder nach einer Seite hin gekrümmt. Die Membran ist ziemlich kräftig. Die Länge der Konidien variiert sehr. Aus 20 Messungen ergab sich eine Länge von 6-24 μ und eine Breite von 3,5-6 μ . Chlamydosporen wurden auf Bierwürzeagar nicht gefunden. Die Konidienträger sind nur in Tröpfchenkulturen unbeschädigt zu sehen, hier verlieren die Sporen allerdings ihre Vielgestaltigkeit (Abb. 10. A,B,C).

Das Keimmyzel (Tröpfchenkultur) ist außerordentlich stark septiert (Abb. 10 G).

Standort: Auf der ganzen Erde verbreitet. In allen pflanzlich und tierischen Abfallstoffen. Vielfach als Schädling auf Getreide (verursacht "Schwärze" des Getreides). Soll auch das Schwarzwerden der Tomaten bedingen. Der Pilz wird bei der Flachsrost verwendet.

7. Stemphylium botryosum var. botrytis

<u>Einteilung</u> :	Bestimmung nach Rabenhorst
Ordnung : Hyphomycetes	Wird zu den Schwärzepilzen
Familie : Dematiaceae	gerechnet.
Abteilg. : Phaeodictyae	
U.Abt. : Macrosporise	

Die Gattung Stemphylium unterscheidet sich von den übrigen Vertretern der Unterabteilung Macrosporae durch nicht scharf abgesetzte Konidienträger. Die Konidienträger werden bei der hier beschriebenen Gattung von seitlichen Myzelästen dargestellt.

Makroskopisches Bild: Junge Kulturen bestehen aus weißem, la faserigem Myzel, welches sich im Laufe des Wachstums ins Schwarze verfärbt. Alte Kulturen trocknen zu einer harten, schwarzen Haut zusammen.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel ist zart, ca. $2\ \mu$ breit, unregelmäßig verzweigt, hyalin. Die stark septierten konidienträger Äste sind breiter als das gewöhnliche Myzel (ca. $4\ \mu$ breit), vielfach knorrig gebogen, hellbraun gefärbt und oft durch kleine kurze Auswüchse gegabelt (Abb. 8 A, E, C, E). Die Konidien sind dunkelbraun, endständig, kurz gestielt, kugelig, elliptisch oder länglich. Auch spindelige Formen kommen vor (Abb. 8 D). Sie sind durch Längs- und Querwände gekammert und zwar durch 1 bis 5 Querwände und 1, seltener 2 Längswände. Aus 20 Messungen ergab sich eine Größe von $(14-36) \times (7-14)\ \mu$, während Rabenhorst eine Größe von $(25-40) \times (16-20)\ \mu$ angibt. Chlamydosporen wurden nicht beobachtet.

Standort: Wenig verbreiteter Bodenpilz.

8. Fusarium oxysporum

Einteilung: Bestimmung nach Wollenweber und
Ordnung : Hyphomycetes Reinking.
Familie : Tuberculariaceae
Abteilg.: Hyalophragmiae
Gruppe : Elegans *
U.Gr. : Oxysporum

Makroskopisches Bild: Der verhältnismäßig schnellwüchsige Pilz bildet schon nach mehreren Tagen ein langfaseriges, mittelhohes, weißes Luftmyzel aus, welches bald in Rosa übergeht. 4-6 Wochen später spielt das Myzel nur noch eine untergeordnete Rolle im Vergleich zu den schleimigen, gelb-, ocker- bis lachs- in der Hauptsache dunkelrotfarbenen Belägen, den sog. Pionnotes, in welche die Makrokonidien eingebettet sind, und die ein charakteristisches makroskopisches Unterscheidungsmerkmal bei der Bestimmung von Fusariumarten darstellen. Aromatische Duftstoffe, die bei der Bestimmung von Fusarien vielfach eine Rolle spielen, konnten nicht festgestellt werden.

Mikroskopisches Bild: Das Auftreten beider Konidienarten, sowie deren Größe und Habitus, ihre Septierung und die Dicke der Membran spielen bei der Bestimmung eine große Rolle. Die Konidien haben zarte Septierung und eine ebensolche Membran. Ihre Ausbildung erfolgt schon nach mehreren (ca. 5) Tagen. Die Mikrokonidien sind meist einzellig, seltener zweizellig, spindel-, ei- oder nierenförmig und zahlreich im Luftmyzel eingestreut (Abb. 11 C). Sie fehlen dagegen in den typischen Schleimlagern (Pionnotes).

Größe: 0-septiert: $(5 - 15) \times (2 - 4) \mu$.

1-septiert: $(10 - 26) \times (2 - 4,5) \mu$.

Die Makrokonidien sind 3-, 4- und 5-septiert, schlank, lang, sichelförmig und mehr oder weniger schwach fußzellig (Abb. 11 A, B)

Größe: 3-septiert: $(19 - 45) \times (2,5 - 5) \mu$.

5-septiert: $(30 - 60) \times (3,5 - 5) \mu$.

Die Angaben von Wollenweber stimmen mit den hier durchgeführten Messungen beider Konidienformen überein. Die eigenen Messungen wurden deshalb nicht angegeben.

Die Konidienträger sind in jungen Kulturen (ca. 6 Tage alt) ver-

einzelnt zu sehen (Abb. 11 H). Sie sind wirtelig verzweigt und etwas breiter als das Myzel. Die Konidien bilden teilweise kurze Ketten. Einzelnt am Träger ansitzende Konidien sind die letzten eines Wirtels. Das Myzel ist wenig septiert, sehr zart, ca. 3 μ breit und speichert reichlich Öl (Abb. 11 E).

Chlamydosporen wurden auf Bierwürzeagar nicht gefunden, jedoch in reichlichem Maße auf synthetischer Nährlösung (Czapek-Dox, Raulin). Sie sind terminal und interkalar, kugelig, einzellig, seltener zweizellig. Größe durchschnittlich 5-15 μ (Abb. 11 D).

Standort: "Der Pilz ist ein Ubiquist, der nicht auf Kartoffeln spezialisiert ist, sondern einen ausgedehnten Wirtspflanzenbereich hat und auch im Humus verbreitet ist. Er ist Fäulniserreger auf Hackfrüchten, z.B. Kartoffeln, Zwiebeln, Kakteen-Sämlingen, Obst". (Wollenweber)⁴⁾.

9. Fusarium flocciferum

<u>Einteilung</u> :	Bestimmung nach Wollenweber
Wie bei <i>Fusarium oxysporum</i>	und Reinking
Gruppe: Discolor	Hauptfruchtform: Gibberella
U.Gr. : Saubinetii	heterochroma Wr

Makroskopisches Bild: Der Pilz bildet wollige Überzüge und zeichnet sich durch ein reiches Farbenspiel aus. Das anfängliche weiße, langfaserige Myzel nimmt schon nach mehreren Tagen einen rossfarbenen bis gelblichen Ton an, der vom hellsten Rosa bis zum dunkelsten Purpurrot variiert. Daneben herrschen braune und gelbe Farbtöne vor. Auch hier konnten keine aromatischen Duftstoffe festgestellt werden.

Mikroskopisches Bild: Das Myzel ist 3-6 μ breit, verzweigt und stark septiert (Abb. 12 K). Ältere Hyphen zeigen zahlreiche Öleinschlüsse (Abb. 12 L). Manche Hyphen zerfallen in einzelne Stücke (Abb. 12 L). Der Grund des Zerfalls kann von Ermüdungserscheinungen des Pilzes herrühren, die infolge seltenen Abimpfens auftraten. Spärliches Wachstum, Fehlen von Sporen und Einbuße der Farbenpracht waren die Folge. Zusatz von 10% Tomatensaft zum Bierwürzeagar und dauerndes Umimpfen bewirkten wieder einwandfreies Wachstum, Fruktifikation und Farbenbildun

Fusarium flocciferum bildet nur Makrokonidien aus, deren Formen mannigfaltig sind (Abb. 12 A-E). Ihre Basis ist mehr oder weniger fußzellig. Vor der Keimung sind die Konidien stark eingeschnürt (Abb. 12 F), wobei jede Septe für sich auskeimen kann (Abb. 12 F,G). In Wasser keimt der Pilz schon nach 12 Stunden. Die eingeschnürten Konidien sind zumeist etwas breiter als die normalen. Die Konidien sind in der Hauptsache 3-5septiert, 1,2 und 6 Septen sind selten.

Größe: 3-sept.: $(21-30) \times (3,5-5,5) \mu$, nach Wollenweber:

$(17-39) \times (3-5,4) \mu$.

4-sept.: $(25-33) \times (4,5-5,8) \mu$.

5-sept.: $(28-47) \times (4,0-6,0) \mu$, nach Wollenweber:

$(29-54) \times (3,7-5,7) \mu$.

6-sept.: $(40-56) \times 6 \mu$.

8)

Die stark variierende Sporengröße kann nach Johann vielfach temperaturbedingt sein. Die Sporen speichern teilweise sehr stark Öl, besonders solche, die sich zur Keimung anschicken (Abb. 12 A,F). Interkalare und terminale Chlamydosporen sind in reicher Zahl vertreten (Abb. 12 H). Sie sind rundlich, durchschnittlich 6-10 μ groß, in Ausnahmefällen bis zu 16 μ , einzellig zweizellig oder in Ketten und Knäueln angeordnet. Verzweigte Konidienträger konnten in jungen Kulturen sehr gut beobachtet werden. Die Konidien zeigen meist fächerförmige Anordnung und entstehen zu mehreren in kurzen Ketten. Die typische Sichelform bildet sich erst kurz vor der Abtrennung vom Konidienträger aus. Die Trennungslinie zwischen den einzelnen Konidien ist durch eine Einschnürung deutlich gekennzeichnet (Abb. 12 J).

Standort: Auf faulenden Pflanzenteilen.

III. Verhaltensweise der Pilze auf verschiedenen synthetischen Nährlösungen.

Zur Gewinnung der Stoffwechselprodukte wurden die Pilze auf synthetischen Nährlösungen gezogen. Voraussetzung für eine möglichst hohe Ausbeute war gutes Wachstum auf den Lösungen.

Aus diesem Grunde wurden die Pilze auf drei verschiedene flüssige Nährsubstrate geimpft und deren optimales Wachstum ermittelt. So kamen neben der Hauptaufgabe Beobachtungen über Entwicklung, Wachstumsgeschwindigkeit, Myzel-, Konidien- und Chlamydosporenbildung, sowie über eventuell auftretende Kümmerformen oder abweichende Wuchsformen zur Durchführung.

Folgende Nährlösungen wurden verwendet:

- a) Nährlösung nach Czapek-Dox: (physiologisch alkalisch)

Zusammensetzung: KH_2PO_4 1,0 g; NaNO_3 2,0 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,01 g; KCl 0,5 g; Glukose 36 g; 1000 ccm Leitungswasser. $\text{pH} = 6,2$.

- b) Nährlösung nach Czapek-Thom: (physiologisch alkalisch)

Zusammensetzung: K_2HPO_4 1,0 g; KNO_3 2,0 g; NaNO_3 0,5 g; KCl 0,5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,01 g; Saccharose 30 g; 1000 ccm Leitungswasser. $\text{pH} = 6,5$.

- c) Nährlösung nach Raulin: (physiologisch sauer)

Zusammensetzung: NH_4NO_3 3,0 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,19 g; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,45 g; K_2CO_3 0,45 g; MgCO_3 0,3 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,052 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,25 g; K_2SiO_3 0,025 g; Glukose 52 g; Weinsäure 3,0 g; 1000 ccm aqua dest. (einfach destilliert). $\text{pH} = 3,5$.

Infolge der ungefähr neutralen Reaktion trat bei Czapek-Dox und Czapek-Thom durch Zusatz von Eisen eine Ausfällung der Phosphate ein, die als Bodensatz erhalten blieb, während die übrige Lösung klar war. Bei Säurettätigkeit durch den Pilz konnte die Ausfällung wieder rückgängig gemacht werden.

Für jede Nährlösung wurden je fünf 100ccm - Erlenmeyerkolben (Schott-Jena) mit 25 ccm der betreffenden Flüssigkeit versehen, mit Wattepfropfen verschlossen, an zwei hintereinanderliegenden Fagen je eine halbe Stunde im strömenden Dampf sterilisiert und mit den zwölf vorseitig beschriebenen Pilzen beimpft. Diejenigen Pilze, die man als schlecht wachsend bezeichnen mußte, zeigten auf ein- und derselben Nährlösung vielfach ein stark unterschiedliches Verhalten: Angefangen von gar keinem Wachstum über nur spurenweisen Bodensatz, schwebenden Myzelflocken, gallertigen, meist submersen Pilzmassen oder vereinzelt klei-

nen Kolonien bis zu dünnen Überzügen über die gesamte Flüssigkeitsfläche. (So bildete beispielsweise *Rhizopus nigricans* auf Czapek-Thom in drei Kölbchen dünne, schwimmende Myzelschleier aus, während die beiden anderen völlig ohne Bewuchs blieben). Überdies waren die Wachstumszeiten sehr unterschiedlich und teilweise erheblich lang.

Die Pilze wurden einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen, um etwaige Abweichungen von der normalen Wuchsform festzustellen. Die Entwicklung der Pilze war je nach Anspruch verschieden. So konnte sich z.B. ein und derselbe Pilz auf der einen Nährlösung optimal, auf der anderen äußerst ungünstig entwickeln. Eine kurze Zusammenfassung über Wachstum, Sporenbildung, Farbstoffbildung der Pilze, sowie über die durch den Pilz hervorgerufene Reaktionsänderung des Nährsubstrats wird im Anschluss an die mikroskopische und makroskopische Betrachtung gebracht (Tab. 1 und 2, Seite 31).

A. Phycomycetes

1. *Rhizopus nigricans*

Auf Czapek-Dox-Nährlösung:

Nach 21 Tagen noch kein Wachstum.

Auf Czapek-Thom-Nährlösung:

Nach 14 Tagen nur dünne schwimmende Myzelschleier oder einzelne schleimige Myzelfetzen. Das Myzel ist stark granuliert, verästelt. 6-8 μ breit, zuweilen knorrig (Abb. 1 L). Noch keine Sporenbildung. Erst nach ca. 8 Wochen hat sich eine Pilzdecke gebildet mit mikroskopisch normalem Wachstumsbild.

Auf Raulin-Nährlösung:

Schon nach 7 Tagen hat sich ein kräftiger, 15-25 mm hoher Rasen ausgebildet, an dem eine 10-15 mm hohe, untere weiße Myzelschicht und eine obere, 5-10 mm hohe, schwarze Sporangien-schicht erkennbar ist. Das mikroskopische Bild entspricht den auf Bierwürzeagar gezogenen Kulturen. (Tab. 1 und 2).

2. Mucor hiemalis

Czapek-Dox:

Wachstum sehr schlecht. Nach 4 Wochen nur wenig, submerses Myzel als schwebende Flocken. Es werden keine Sporen ausgebildet. Myzel reich an Öltropfen. Gemmen sehr zahlreich.

Czapek-Thom:

Kein Wachstum.

Raulin:

Weißer Pilzdecke, die sich nicht über das ganze Nährsubstrat erstreckt, aber nicht submers. Normales Myzel mit stark granuliertem Plasma. Wenig Sporangien, aber reich an Gemmen.

3. Mucor racemosus

Czapek-Dox:

Wachstum sehr gut. Es bildet sich eine weiße, schleimige Pilzdecke, die das ganze Nährsubstrat überzieht. Auf ihr erhebt sich nach einigen Tagen weiß-grau-bräunliches, langfaseriges Luftmyzel. Die Pilzdecke sinkt nach ca. 3 Wochen unter. Myzelbildung teilweise reduziert. Es treten vorwiegend Gemmen auf, die terminal, interkalar oder in Ketten vorkommen. Zahlreiche Sporen.

Czapek-Thom:

Hier bildet sich bereits nach 7 Tagen eine schöne, weiße, langfaserige, das ganze Substrat überziehende Pilzdecke aus. Mikroskopisches Bild wie auf Czapek-Dox.

Raulin:

Nach 7 Tagen schleimige, weiße, teils geschlossene, submerser Pilzdecke, auf der sich nur vereinzelt langfaseriges, bräunliches Myzel erhebt. Die gallertigen Pilzmassen werden nur vom Myzel dargestellt. Sporangienträger finden sich reichlich in dem oben beschriebenen bräunlichen Pilzrasen.

B. Ascomycet.

1. Aspergillus niger

Czapek-Dox:

Nach 7 Tagen kräftige, teilweise dunkel-schmutzgrün, später

schwarzbraun schimmernde, stark gekörnte Pilzdecke, die vielfach etwas gefaltet ist. Die weißen Myzelränder fallen auf. Die Pilzdecke ist übersät mit kleinen wassertropfen, die durch aktive Wasserausscheidung bei hoher Luftfeuchtigkeit entstehen. In diesem Atemwasser sollen nach Rippel-Baldes⁹⁾ anorganische und organische Stoffe enthalten sein. Die Myzelbildung ist auf den einzelnen Nährmedien sehr unterschiedlich und mannigfaltig. Neben relativ zartem, verzweigtem, wenig septiertem, 2-4 μ breitem, reichlich ölspeicherndem Myzel herrscht ein etwas kräftigeres vor, das ca. 4 μ breit, sehr stark verzweigt und septiert ist (Abb. 4E). Sporangien- und Sporenbildung sehr kräftig und wie auf Bierwürzeagar.

Czapek-Thom:

Wachstum bedeutend schlechter. Nach 7 Tagen hat sich am Glasrand ein 5-10 mm breiter, gefalteter, weißer Myzelring entwickelt mit nur geringer Sporenbildung. Nach 14 Tagen schließt sich der Ring zu einer das ganze Substrat überziehenden Pilzdecke. Die Sporenbildung ist jetzt bedeutend kräftiger, jedoch nicht vergleichbar mit derjenigen auf Czapek-Dox. Das sehr kräftige, ca. 6 μ breite Myzel ist septiert und verzweigt (Abb. 4G). Sporangien- und Sporenbildung wie auf Bierwürzeagar.

Raulin:

Es bildet sich nach 7 Tagen eine geschlossene, schneeweiße, kräftige, gefaltete, an den Rändern stark aufgeworfene Pilzdecke, auf der sich die Sporen entweder regelmäßig, aber ziemlich spärlich ausbreiten oder sich am Rand konzentrieren, wobei dann die übrige Fläche fast sporenfrei ist. Nach 14 Tagen ist die gesamte Pilzdecke mit reichlich Sporen überzogen. Die Kultur ist schwarzbraun (nach 7 Tagen schwarzgrün). Das reichlich ölspeichernde Myzel ist ca. 3 μ breit, wenig septiert und wenig verzweigt (Abb. 4F). Sporangien- und Sporenbildung wie auf Bierwürzeagar. Bei einer durchgeführten Parallelreihe war auch nach längerem Wachstum die Sporenbildung gering und die Pilzdecke verfärbte sich allmählich schmutzig braun.

Das Stoffwechselprodukt ist auf allen drei Substraten nach 8-10 Tagen gelborange und wird auf Raulin-Nährlösung nach ca. 3 Wochen rot- bis dunkelbraun. Die braune Farbe verdankt ihre Entstehung Oxydations- und Kondensationsvorgängen, wodurch die Farbstoffe in huminartige Stoffe übergehen⁹⁾.

2. Verticillium glaucum

Czapek-Dox:

Anfänglich entstehen ähnlich den Angaben von Wehner¹⁰⁾ gallertige, feste Decken, die aber nach ca. 10 Tagen von feinem, weißem Luftmyzel überzogen werden, welches mit zunehmender Sporenbildung von den hauptsächlich gelben, weniger grünen Sporen fast vollkommen verdrängt wird. Das mikroskopische Bild gleicht vollkommen dem auf Bierwürzeagar. Reichliche Sporenbildung, viele Chlamydosporen und Riesenzellen.

Czapek-Thom:

Das Wachstum ist weniger gut als auf Czapek-Dox. Auch hier hat sich bereits nach 7 Tagen eine gallertige, weiße, geschlossene Pilzdecke gebildet, auf der sich jedoch nur noch Flecken von gelben und grünen Sporen konzentrieren. Riesenzellen und Chlamydosporen treten nur noch vereinzelt auf. Sonst ist das mikroskopische Bild unverändert.

Raulin:

Es entwickelt sich nur noch eine feste, submerse, gallertige Pilzdecke. Sporen werden nicht mehr ausgebildet. Chlamydosporen und Riesenzellen fehlen. Myzel normal entwickelt.

3. Verticillium affine

Czapek-Dox:

Wachstum schlecht. Nach 7 Tagen nur dünne, teilweise geschlossene, gelbliche, schleimige Pilzdecke, an deren Rand sich im Verlauf des Wachstums die ziegelroten Sporen ansammeln. Bei geringer Sporenbildung ist reichlich ca. 2 μ breites, wenig septiertes Myzel vorhanden.

Czapek-Thom:

Wachstum sehr gut. Schon nach wenigen Tagen bildet sich eine geschlossene, ziegelrote Pilzdecke. Interessant ist die Farbänderung des Stoffwechselproduktes. Anfänglich orange, verfärbt es sich nach ca. 14 Tagen ins Orange-Rote und ist nach ca. 3 Wochen dunkelrot, ja fast schwarz. Das normal ausgebildete Myzel spielt im Vergleich zu den ungeheuer zahlreich auftretenden Sporen und Konidienträgern nur eine untergeordnete Rolle.

4. Blastotrichum puccinoides var. x

Czapek-Dox:

Wachstum sehr gut. Nach 14 Tagen geschlossene, dichte, bräunlich-schwarze Pilzdecke mit einzelnen roten und grünen Farbtönen. Das Stoffwechselprodukt ist orange-braun. Reichliche Sporenbildung schon nach 6 Tagen. Die Konidienträger sind besonders gut zu erkennen. Sonstige Beschaffenheit des Myzels und der Sporen (Größe, Dicke, Form) wie auf Bierwürzeagar.

Czapek-Thom:

Anfänglich gallertige Pilzdecke, die nach 7-10 Tagen von grauen, schwarzen, braunen und weißen Myzelflecken überzogen wird. Die Decke ist geschlossen, aber nicht so kräftig wie diejenige auf Dox. Mikroskopisches Bild wie auf Czapek-Dox.

Raulin:

An Stelle einer geschlossenen Pilzdecke weiße, rundliche, schleimige, warzig-sprossende Myzelmassen, die in der Nährlösung schweben und ihr ein trübes Aussehen verleihen. Das Myzel ist mitunter eigenartig knorrig verdickt und kugelig angeschwollen (Abb. 7E). Sporenbildung unterdrückt.

5. Periconia thebaica

Czapek-Dox:

Nach 7 Tagen überzieht der Pilz in vielen einzelnen, ca. 5 mm Ø großen, schneeweißen Kolonien das Substrat. Sporen treten zu dieser Zeit noch nicht auf. Einige Tage später hat sich eine dichte, etwas graustichige, fast schneeartig aussehende Pilzdecke gebildet. Nach 14 Tagen hat bereits starke Sporenbildung eingesetzt. Konidienträger sind nicht zu sehen. Der Habitus des Pilzes stimmt vollkommen mit dem auf Bierwürzeagar gewachsenen überein. Keine Chlamydosporen.

Czapek-Thom:

Dasselbe Bild wie auf Czapek-Dox, nur geht das Wachstum langsamer vonstatten. Eine geschlossene, aber dünne Pilzdecke bildet sich erst nach ca. 20 Tagen. Mikroskopisches Bild wie auf Czapek-Dox, aber sehr wenig Sporen.

Raulin:

Nach 7 Tagen noch kein Wachstum, nach 14 Tagen haben sich vereinzelt weiße, schwimmende, vielfach aufgewölbte, 2-4 mm große

Kolonien gebildet. Diese sind selten rund, viel häufiger länglich oder dreieckig. Das Myzel ist eigenartig verdickt, ca. 4 μ breit; keine Sporen mehr.

6. Cladosporium herbarum

wächst auf allen drei Nährlösungen relativ langsam.

Czapek-Dox:

70% der Kulturen wuchsen gut. Der Pilz bildet dann anfänglich einzelne runde, grüne, harte, teilweise gefaltete Kolonien, die an Umfang zunehmen und allmählich (nach ca. 14 Tagen) zusammenwachsen. Alte Kulturen verfärben sich ins Grauschwarze. Neben normalem, ca. 2 μ breitem Myzel, welches starke Septierung aufweist, traten Chlamydosporen auf, die sich jedoch nur in einem einzigen Kulturgefäß und nach länger Wachstumszeit entwickelt hatten (Abb. 10 E). Konidienträgerbildendes Myzel ca. 3 μ breit, stark septiert, gelb gefärbt. Wie auf Bierwürzeagar treten viele Konidienträgerbrucastücke auf. Gute Sporenbildung. Die restlichen schlecht wachsenden 30% zeigten im makroskopischen Bild Kulturen von höchstens 10-20 mm Durchmesser, die an Größe nicht mehr zunahmen. Die Sporenbildung ist dann stark zurückgedrängt. Neben normalem Myzel traten Kümmerformen auf (Abb. 10 F).

Czapek-Thom:

Hier werden noch seltener als auf Czapek-Dox geschlossene Pilzdecken ausgebildet. Diese sind dann von schöner grüner Farbe, staubig und nach 14 Tagen voll entwickelt. Sie entstehen aus vielen kleinen, tiefgrünen, flockig-faserigen Kolonien, die allmählich zusammenwachsen. In der Hauptzahl der Kulturgefäße bilden sich jedoch nur einzelne, ca. 5 mm große Kolonien. Bei den Kulturen mit geschlossener Pilzdecke findet man nach 7 Tagen normales Myzel. Sporenbildung tritt erst einige Tage später auf. Sie ist bei den Einzelkolonien sehr spärlich. Sonstiges Bild wie auf Bierwürzeagar. Keine Chlamydosporen.

Raulin:

Nach 20 Tagen nur einzelne, stecknadelkopfgroße, grüne Kolonien. Myzel normal, keine Sporenbildung. Keine Chlamydosporen.

7. Stemphylium botryosum var. botrytis

Czapek-Dox:

Wachstum sehr gut. Anfänglich weiße, nach 14 Tagen schwarze, geschlossene Pilzdecke auf farblosem Stoffwechselprodukt. Myzel zart, ca. 2 μ breit, konidientragendes Myzel 4 μ breit, gelb gefärbt, knorrig. Die zahlreichen Sporen gelbbraun oder schwarz.

Czapek-Thom:

Nach 14 Tagen Pilzdecke dunkel- bis hellbraun und weiß marmoriert, verfärbt sich dann wie auf Czapek-Dox ins Schwarze. Mikroskopisches Bild wie auf Czapek-Dox.

Raulin:

Nach 14 Tagen noch kein Wachstum. Nach 21 Tagen einzelne schwebende, voluminöse, graugrüne Myzelflocken. Normales Myzel fehlt, dafür lange Ketten von mehr oder weniger rundlichen, unregelmäßigen Zellen, die vielfach Verzweigungen aufweisen (Abb. 8 F). Konidienträger und Sporen werden nicht mehr ausgebildet.

8. Fusarium oxysporum

Czapek-Dox:

Entgegen den Feststellungen Niethammers¹⁾, daß Fusarien in 5%iger Glukose- oder Saccharoselösung nur submerses Wachstum aufweisen, hatte sich hier bereits nach 7 Tagen eine schöne, anfänglich weiß-graue, später blauviolette bis grauschwarze, das ganze Substrat überziehende Pilzdecke gebildet. Der Pilz zeichnet sich durch starke Farbstoffbildung aus. Der Farbstoff wird nicht nur im Myzel gespeichert, sondern auch in großen Mengen nach außen abgegeben. Nach 7 Tagen ist die Kulturflüssigkeit orange bis rosa und erhält nach einer weiteren Woche eine dunkelrote Färbung. Die ca. 3 μ breiten Hyphen speichern sehr stark Öl. Die Öltropfen weisen nicht selten eine so starke Regelmäßigkeit in Größe und Abstand voneinander auf, daß ein solcher Myzelfaden an eine Perlenschnur erinnert (Abb. 11 F). Sporen treten in gewaltigen Mengen auf, vor allem Mikrosporen. Sie haben vielfach stark granuliertes Plasma oder sind reich an Reservefett, sodaß die Septierung teilweise kaum zu erkennen ist. Die Makrokonidien sind von einer kräftigen Membran

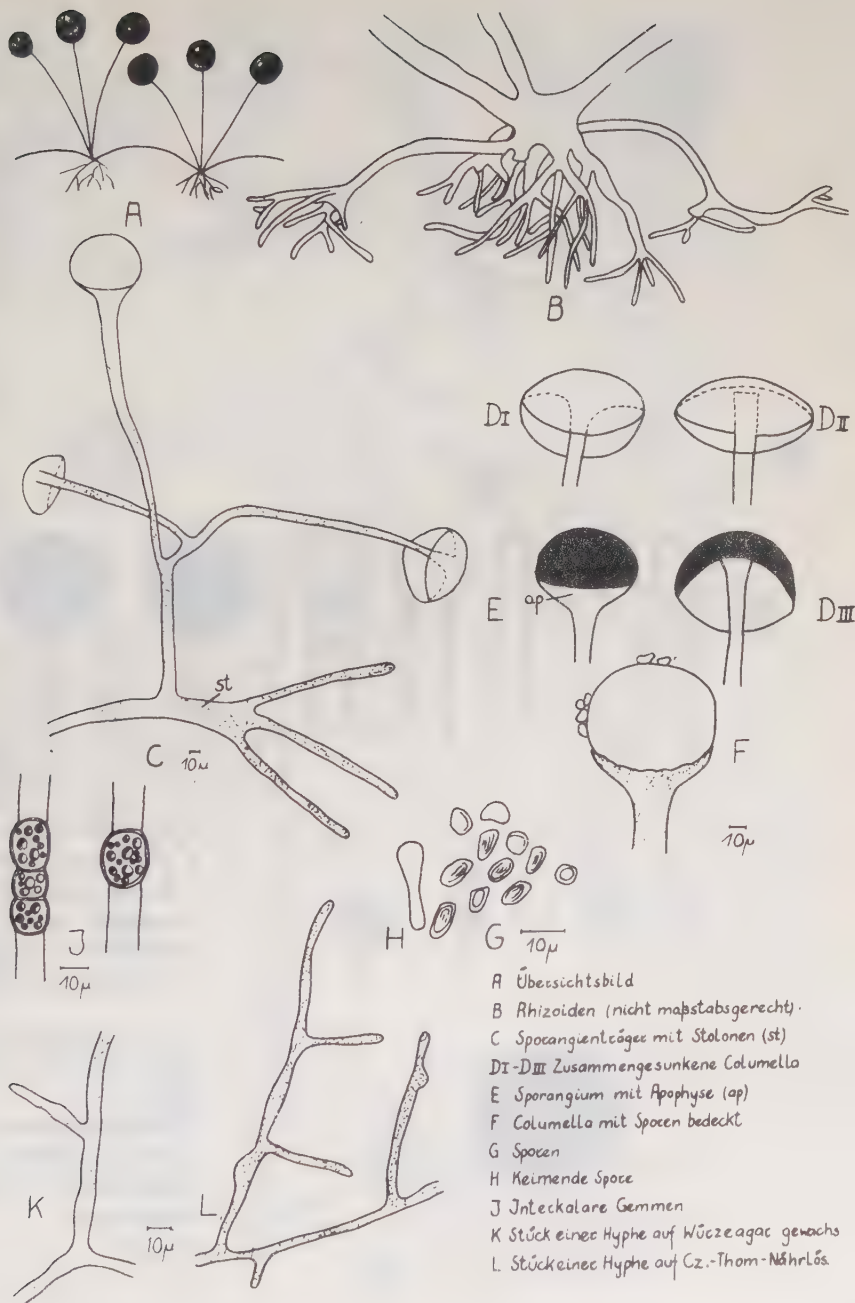
umgeben, an den Septenwänden vielfach eingeschnürt und etwas verbreitert (Abb. 11 E). Nach langem Wachstum viele Chlamydo-sporen und Riesenzellen.

Czapek-Thom:

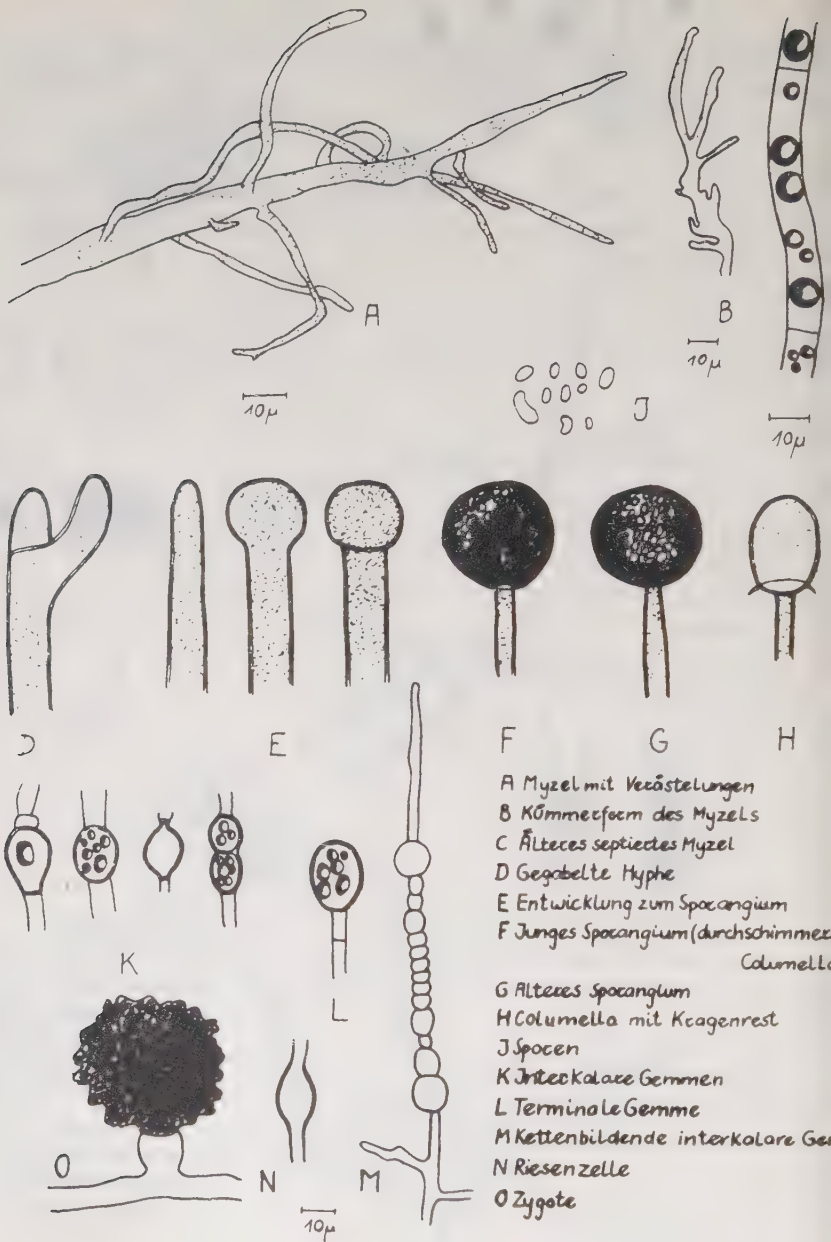
Nach 7 Tagen grau-violette geschlossene Pilzdecke, dazwischen türkisfarbene bis hellgrüngelbe Töne. Stoffwechselprodukt tie-orange. Nach 14 Tagen ist die Farbe der Pilzdecke hellgrau-bläulich mit weißgelben und hellgrauen Flecken und tiefdunkel-blauem Rand. Die Kulturflüssigkeit zeigt rotorange Farbe. Nach 20 Tagen ist die Pilzdecke bräunlich. Atemwasser wird reichlich ausgeschieden. Das mikroskopische Bild entspricht dem auf Czapek-Dox. Ca. 4 Monate alte Kulturen haben stark verdicktes Myzel, 4-5 μ breit mit vielen Öltropfen und vielfach welliger, eingeschnürter Membran (Abb. 11 G I). Daneben existiert 5-9 μ breites Myzel, das aus einzelnen Gliedern besteht und ebenfalls stark Fett speichert (Abb. 11 G II). Das auf synthetischen Nährlösungen auftretende, vielfach abnorme Myzelwachstum der Schimmelpilze führt W. Brown¹¹⁾ auf das alkalisch Werden der Nährböden infolge von Ammoniakproduktion zurück. Tatsächlich lässt *Fusarium oxysporum* infolge seiner Stoffwechsellätigkeit den p_{H} -Wert von 6,5 der Ausgangslösung ins alkalische Gebiet ansteigen, was auf die Bildung von Ammoniak schliessen lässt. Der p_{H} -Wert betrug nach 14-tägigem Wachstum 8,1, wie aus der zusammenfassenden Tabelle 2 der p_{H} -Wertänderungen des Mediums infolge Stoffwechsellätigkeit der Schimmelpilze zu ersehen ist. Die so gebildeten OH^{-} - Ionen (bzw. H^{+} - Ionen) sollen den Organismen vielfach als "Kampfstoffe" dienen¹²⁾. Auch Riesenzellen, 5-9 μ groß, sowie Chlamydo-sporen treten auf. Letztere sind ein- oder zweizellig oder bilden Ketten (Abb. 11

Raulin:

Verdicktes Myzel, keine Sporen. Sehr starke Chlamydo-sporen-bildung, terminal und interkalar, mit vielen Öltropfen. Oft ist die ganze Chlamydo-spore nur von einem großen Öltropfen erfüllt. Auch Riesenzellen treten auf.

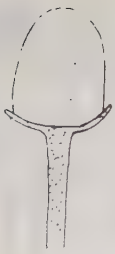


- A Übersichtsbild
 B Rhizoiden (nicht maßstabgerecht)
 C Sporangienträger mit Stolonen (st)
 D_I-D_{III} Zusammengesunkene Columella
 E Sporangium mit Apophyse (ap)
 F Columella mit Sporen bedeckt
 G Sporen
 H Keimende Spore
 I Intercalare Gemmen
 K Stück eines Hyphes auf Wüzeagar gewachs
 L Stück eines Hyphes auf Cz.-Thom-Nährlös



- A Myzel mit Verzästelungen
 B Kümmerform des Myzels
 C Älteres septiertes Myzel
 D Gegabelte Hyphe
 E Entwicklung zum Sporangium
 F Junges Sporangium (durchscheinend)
 G Älteres Sporangium
 H Columella mit Keagenrest
 J Sporen
 K Interkalare Gemmen
 L Terminale Gemme
 M Kettenbildende interkalare Gemme
 N Riesenzelle
 O Zygote

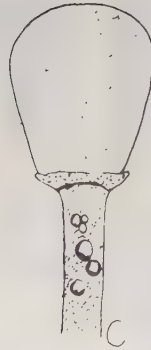
Mucor hiemalis



A



B



C



D

10μ

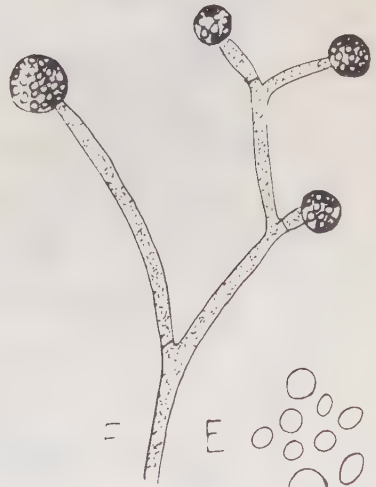


E



G

10μ



H

10μ



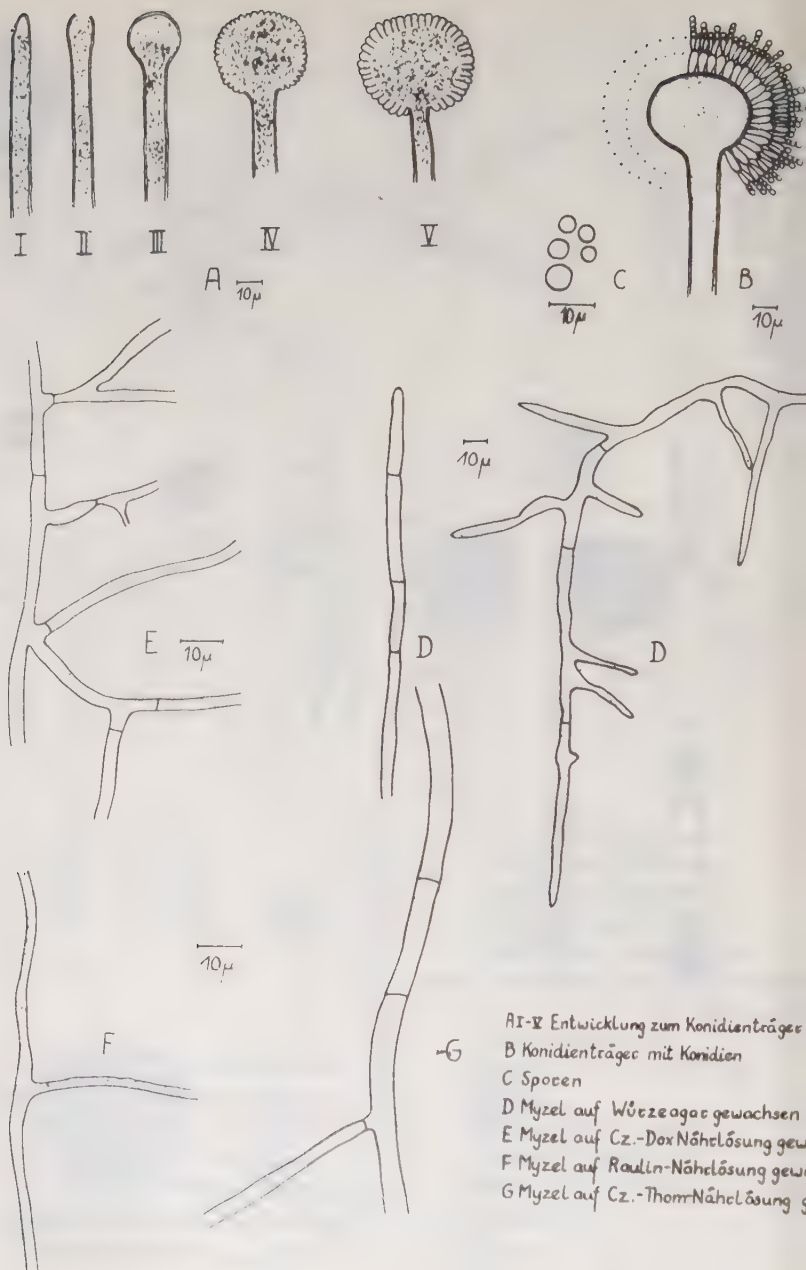
I

10μ

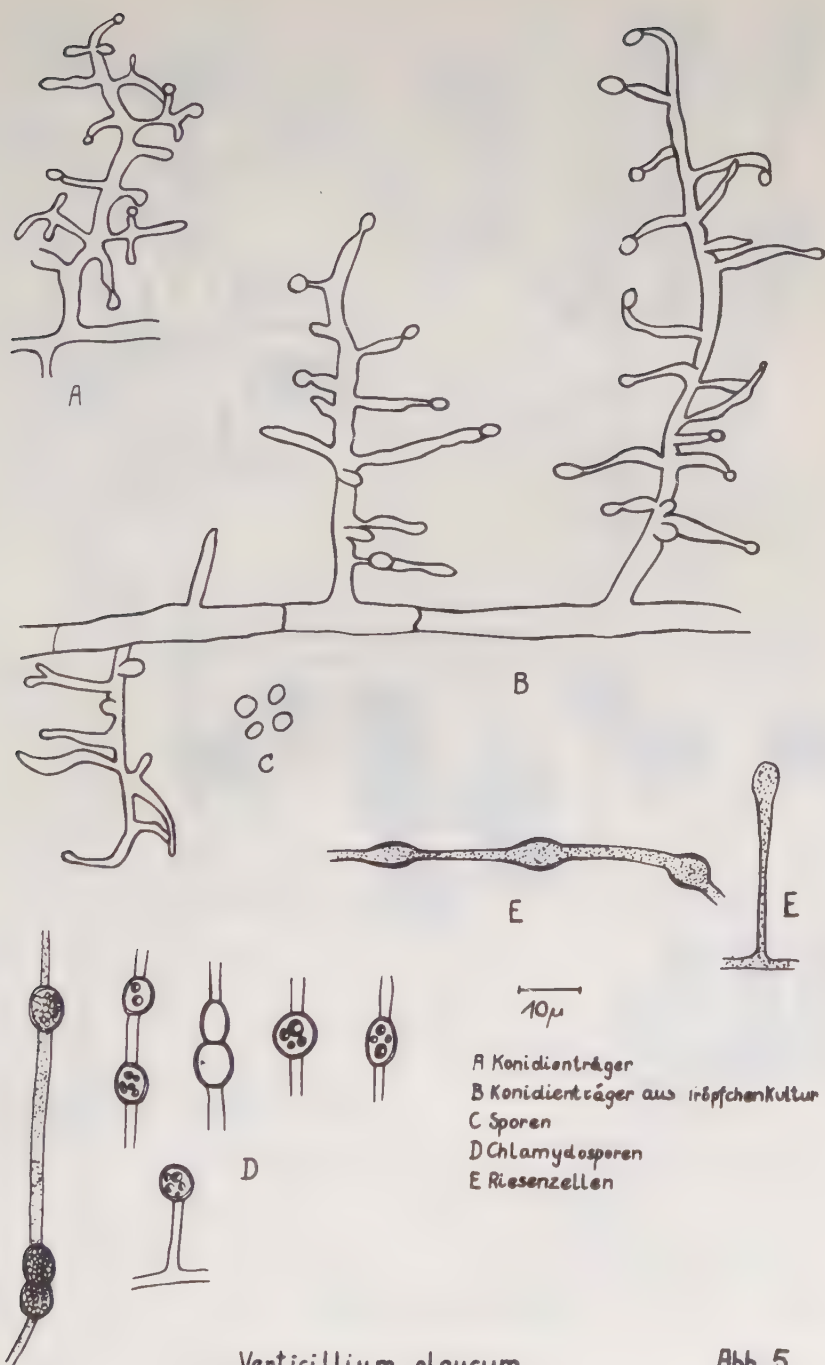
J
10μ



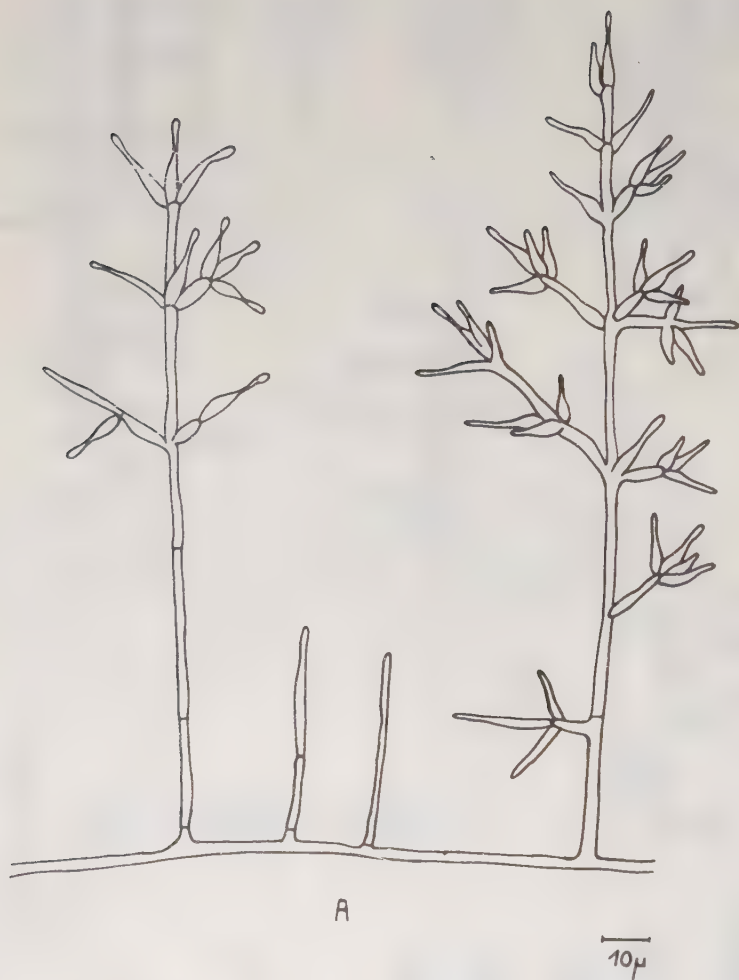
- ABC Verschiedene Columelloformen mit Keimrest
 D Columella durch die Sporangienwand schimmernd
 E Sporen
 F Sporangienträger mit Sporangien
 G Kettenbildende Gemmen
 H Gemmen durch Myzelfäden getrennt
 J Terminale einzellige Gemme



AI-V Entwicklung zum Konidienträger
 B Konidienträger mit Konidien
 C Sporen
 D Myzel auf Würzeagar gewachsen
 E Myzel auf Cz.-Dox Nährlösung gew.
 F Myzel auf Raulin-Nährlösung gew.
 G Myzel auf Cz.-Thom-Nährlösung g



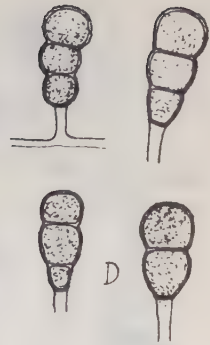
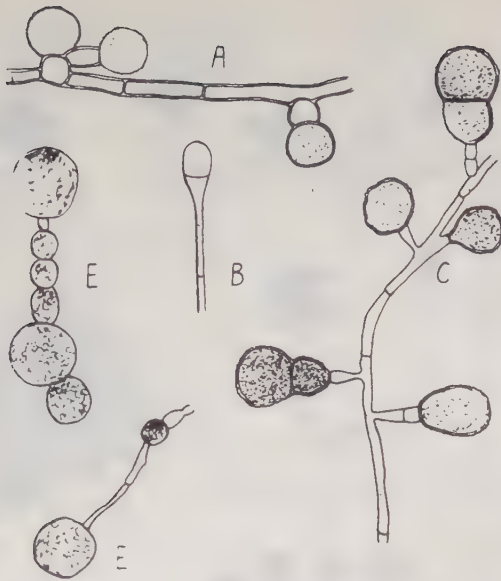
Verticillium glaucum



A Junges Konidienträger (rot gefärbt)
 B Sporon (teilweise mit Öleinschlüssen)

Verticillium affine

Abb. 6

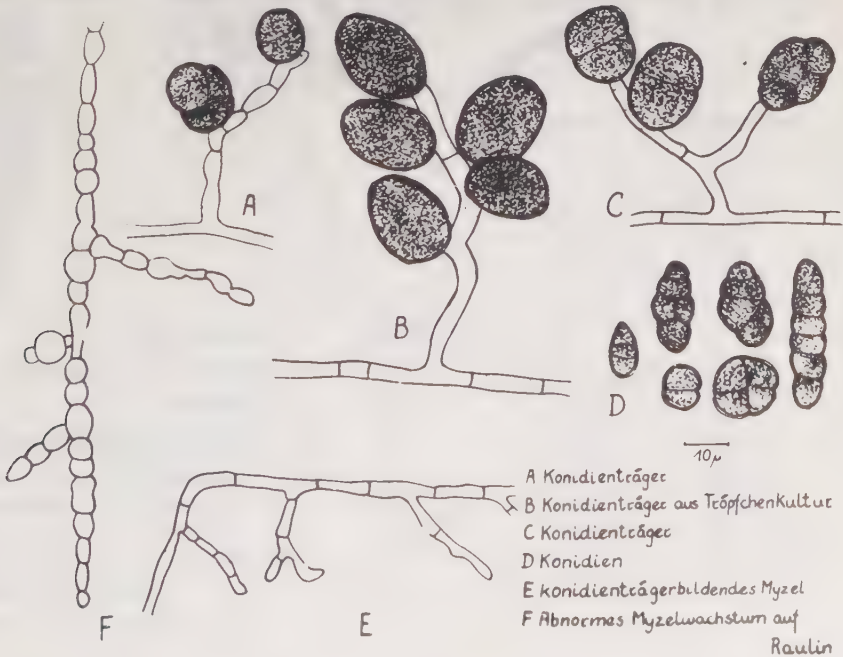


- A Junge Konidien 8 Tage alt
B Junge Konidie 4 Tage alt
C Konidienstand 10 Tage alt
D Sporen
E Kugelig verdicktes Myzel auf Raulin

10 μ

Blastotrichum puccinoides var. X

Abb. 7

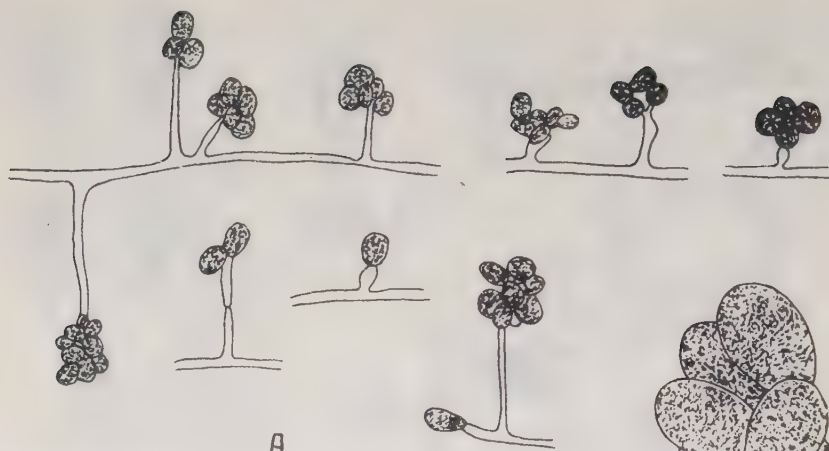


- A Konidienträger
B Konidienträger aus Tröpfchenkultur
C Konidienträger
D Konidien
E Konidienträgerbildendes Myzel
F Abnormes Myzelwachstum auf Raulin

10 μ

Stemohulium botryosum var. *botrytis*

Abb. 8



A



CI

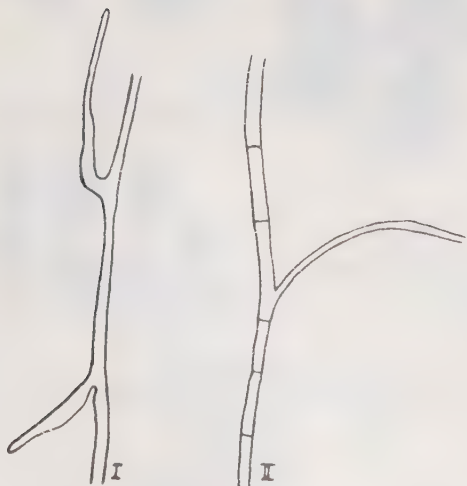


CII



B

10 μ

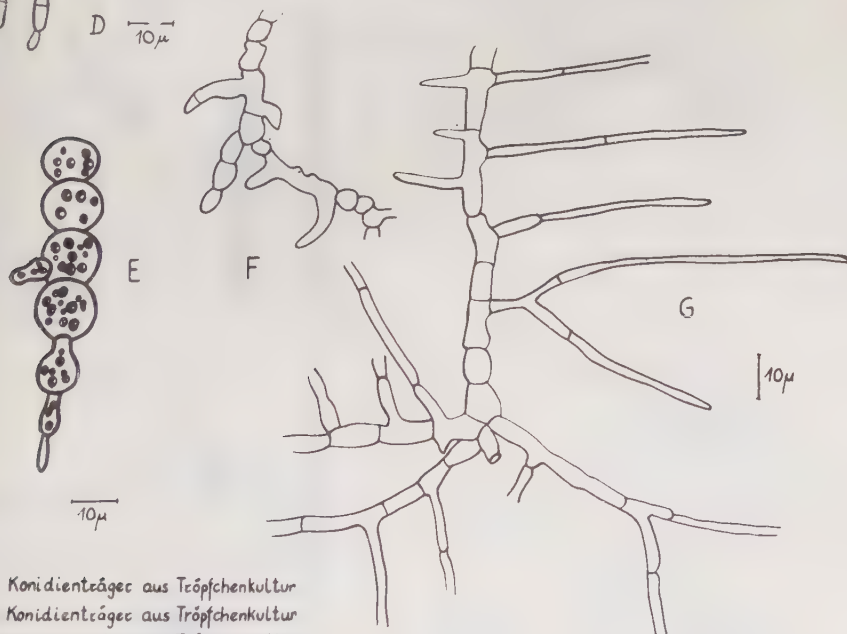


I

II

D

- A Konidienträger
- B Konidienträger vergrößert
- C Sporenformen
- D Myzel auf Würzeagar gewachsen



A Konidienträger aus Tröpfchenkultur

B Konidienträger aus Tröpfchenkultur

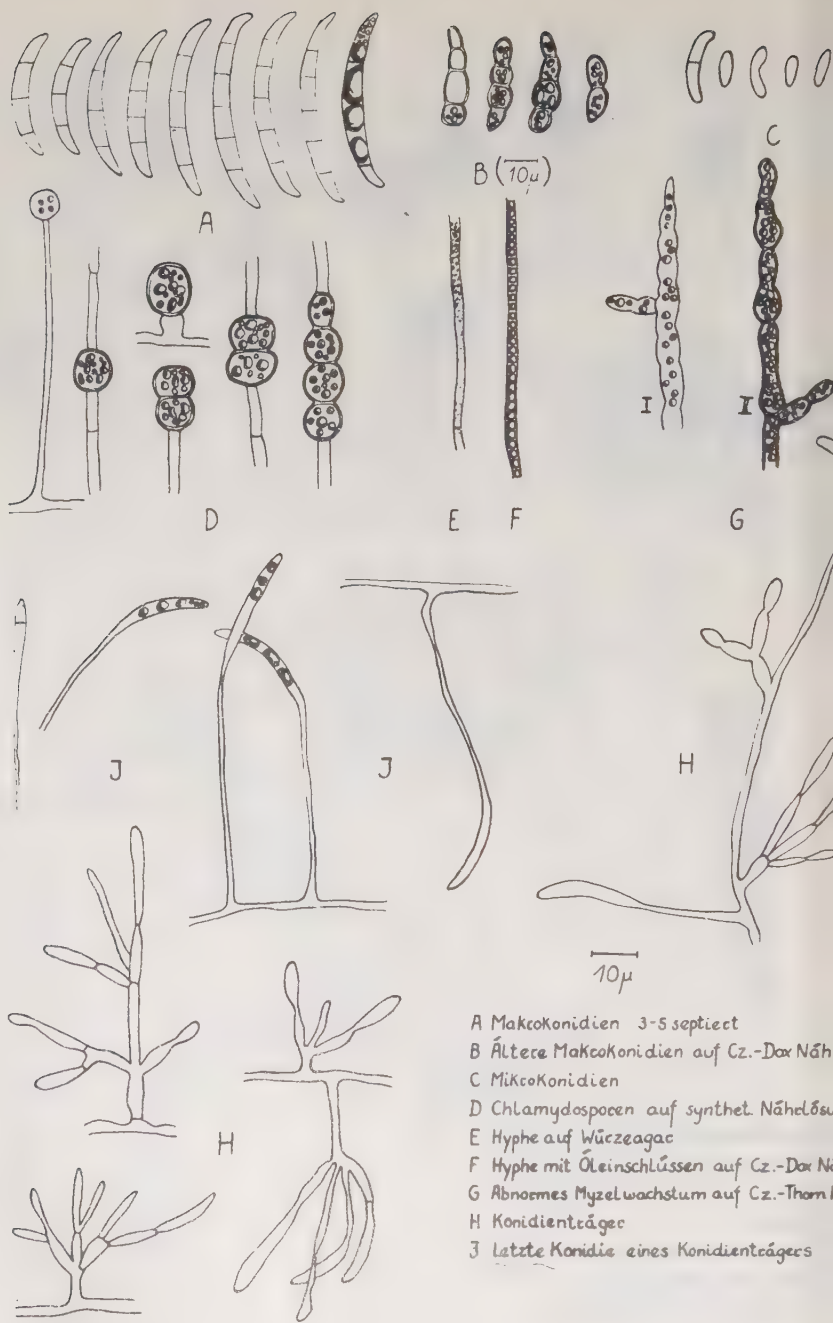
C Konidienträger aus Tröpfchenkultur

D Sporen

E Chlamydosporenbildung auf Cz.-Dox Nährl.

F Kümmerform des Myzels " "

G Keimmyzel aus Tröpfchenkultur



A Makrokonidien 3-5 septiert

B Ältere Makrokonidien auf Cz.-Dox NÄh

C Mikrokonidien

D Chlamydosporen auf synthet. Nährlösung

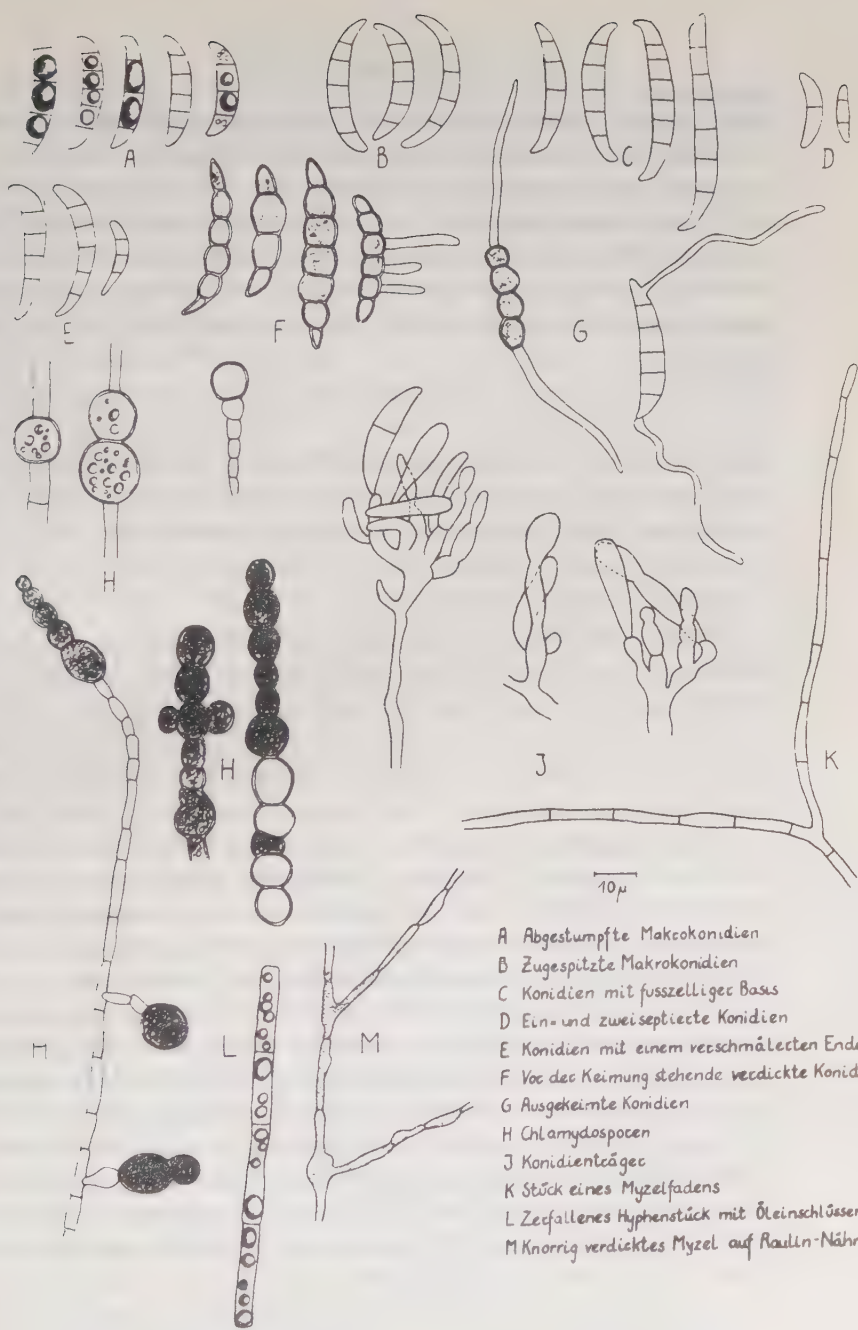
E Hyphe auf Wüzeagac

F Hyphe mit Öleinschlüssen auf Cz.-Dox NÄh

G Abnormes Myzelwachstum auf Cz.-Thom

H Konidienträger

I Letzte Konidie eines Konidienträgers



- A Abgestumpfte Makrokonidien
 B Zugespitzte Makrokonidien
 C Konidien mit fusszelliger Basis
 D Ein- und zweiseptierte Konidien
 E Konidien mit einem verdickten Ende
 F Vor der Keimung stehende verdickte Konidien
 G Auskeimende Konidien
 H Chlamydosporen
 J Konidienträger
 K Stück eines Myzelfadens
 L Zerfallenes Hyphenstück mit Öleinschlüssen
 M Knorrig verdicktes Myzel auf Raulin-Nährl.

Fusarium floccifecum

9. Fusarium flocciferum

Czapek-Dox:

Nach 14 Tagen geschlossene, etwas gallertige, bräunlich-rote Pilzdecke mit ausgeprägtem rotem Rand, die sich nach ca. 4 Wochen ins Rot-Violette verfärbt. Die Myzelbildung ist stark zurückgedrängt. Zahlreiche terminale, interkalare oder kettenbildende Chlamydosporen sind zu beobachten (Abb. 12 H). Durch die für den Pilz anscheinend ungünstigen Lebensbedingungen entstehen viele Riesenzellen. Sporen werden zahlreich gebildet.

Czapek-Thom:

Wie auf Czapek-Dox, Pilzdecke aber dünner und bräunlich verfärbt.

Raulin:

Nach 14 Tagen noch kein Wachstum. Nach 4 Wochen haben sich harte Myzelkrusten gebildet. Neben normalem Myzel tritt knorr verdicktes auf (Abb. 12 M). Sporen nur vereinzelt.

Die hier durchgeführte mikroskopische und makroskopische Betrachtung der Pilze auf den verschiedenen Nährsubstraten beweist, daß deren Gedeihen von der Ausgangslösung abhängig ist was sowohl in der Nährstoffgabe selbst, als auch in der Wasserstoffionenkonzentration begründet liegt. Das Wachstum wiederum steht in enger Beziehung zur Sporenbildung, d.h. gute Entwicklung des Pilzes gewährleistet ausgiebige Sporenbildung und normale Wuchsform. Tabelle 1 (Seite 31) bietet eine zusammenfassende Übersicht über Entwicklung und Sporenbildung auf den verschiedenen Nährsubstraten. Eindeutig geht daraus hervor daß die Nährlösungen nach Czapek-Dox und Czapek-Thom sich bedeutend günstiger auf das Wachstum der Pilze auswirken als diejenige nach Raulin. Mit Ausnahme von *Rhizopus nigricans* und *Aspergillus niger* erträgt keiner der Organismen das saure p_H von 3,5. Ersterer erreicht dort allerdings sein Wachstumsoptimum. Überdies besteht die Vermutung, daß der Pilz das Ammoniumion dem Nitration vorzieht. Diese Vermutung ergibt sich aus den Versuchen von Metz¹²⁾, dessen Bemühungen, einen Vertreter der Gattung *Rhizopus* auf physiologisch alkalischer Nährlösung

zu kultivieren, fehl schlugen, während auf physiologisch saurem Substrat üppigstes Wachstum erzielt werden konnte. Da der p_H -Wert bei beiden Nährlösungen 3,6 war, konnte die Ursache des Versagens nur auf die N-Quelle zurückgeführt werden. Sie war bei der physiologisch alkalischen Nährlösung Nitrat, bei der physiologisch sauren Ammonium. Diese Ergebnisse decken sich mit den hier gebrachten Feststellungen. *Rhizopus nigricans* versagt auf nitrathaltiger Nährlösung, wächst dagegen üppig auf ammonhaltigem Substrat. Selbstverständlich kann auch, wie bereits kurz erwähnt, die Wasserstoffionenkonzentration eine Rolle spielen. *Mucor hiemalis* setzte der Kultivierung auf künstlichem Nährsubstrat erhebliche Schwierigkeiten entgegen und zeigte wenig Neigung zur Ausbildung geschlossener Pilzdecken.

Anschließend soll hier noch kurz der Farbstoffbildung sowie der Reaktionsänderung der Kulturflüssigkeit infolge der Stoffwechseltätigkeit der Pilze Aufmerksamkeit geschenkt werden. Sie sind, genau so wie Wachstum und Sporenbildung, sowohl von der Reaktion und der chemischen Zusammensetzung der Ausgangslösung, als auch von dem Alter der Kultur abhängig. Die Farbstoffbildung bezieht sich einerseits auf die Farbstoffabgabe in das Nährsubstrat, andererseits auf die Farbstoffspeicherung im Myzel.

Von den hier isolierten Pilzen sind besonders *Aspergillus niger*, *Verticillium affine*, *Fusarium oxysporum*, *Blastotrichum puccinoides* und *Periconia thebaica* durch ihre starke Farbstoffabgabe ausgezeichnet. Die Ergebnisse der Tabelle 2 beweisen, daß die Intensität der Farbstoffausscheidung in enger Beziehung zur Ausgangslösung steht. So ist beispielsweise die Kulturflüssigkeit von *Fusarium oxysporum* auf Czapek-Dox tief dunkelrot, auf Czapek-Thom dunkelorange und auf Raulin rosa gefärbt. Eine ähnlich schwächer werdende Farbabstufung bieten auch *Verticillium affine*, *Blastotrichum puccinoides* und *Periconia thebaica*. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß mit abnehmendem Wachstum auch die Farbstoffabgabe in das Nährmedium aufhört. *Aspergillus niger* bildet auf Czapek-Thom und Czapek-Dox gelbe, auf Raulin anfangs gelbe, nach 25-30 Tagen rötlichbraune bis tiefbraune Farbstoffe. Letztere sind neben anderen Farbstoffen auf Melanine bzw. Humine zurückzuführen.

Die Bildung von Huminsäuren in Kulturen von *Aspergillus niger* wurde bereits 1927 von Eortels nachgewiesen. Nach Küster¹³⁾ und Flotho¹⁴⁾ können Huminsäuren aus den vom Pilz gebildeten cyclischen Stoffwechselprodukten synthetisiert werden. Ihre Bildung erfolgt erst im neutralen Bereich, weshalb die typische braune Farbe des auf Raulin-Nährlösung gezüchteten Pilzes erst nach ca. 25 Tagen und bei einem p_H -Wert von 6,5 (Ausgangs- $p_H = 3$), erfolgt. Während die Farbstoffe in der Hauptsache O-freie, cyclische Verbindungen sind, die als Sauerstoffreservoir dienen⁹⁾, sollen die Huminsäuren nach Rippel und Walter¹⁵⁾ N-haltig sein. Die braune Farbe ist außerdem eine Begleiterscheinung der Autolyse, was später nochmals zur Besprechung kommen wird. Die Nährsubstrate aller übrigen Pilze waren farblos bis schwach gelb.

Ebenso können die Farbstoffe, die im Myzel gespeichert werden, je nach Nährlösung variieren. Im allgemeinen gilt hier, wie bei der Farbstoffausscheidung, daß schlechte Entwicklung die normale Farbstoffbildung unterdrückt. Um ein Beispiel herauszugreifen: *Elastotrichum puccinoides* bildet auf Czapek-Dox und Czapek-Thom bräunlich-schwarzes Myzel aus, auf Raulin entsteht dagegen nur noch weiße, schwebende Flocken. Mit Ausnahme von *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* und *Stemphylium botryosum* bildet keiner der hier isolierten Pilze auf Raulin-Nährlösung normal gefärbtes Myzel aus.

Zur Ermittlung der Reaktionsänderung der Kulturflüssigkeit wurden mit Rücksicht auf die erheblichen Schwankungen der p_H -Werte drei Parallelreihen durchgeführt. Für jedes Nährsubstrat wurden je 5 100ccm-Erlenmeyerkolben mit 25ccm der betreffenden Lösung beschickt, an zwei hintereinanderliegenden Tagen je eine halbe Stunde im strömenden Dampf sterilisiert und mit den verschiedenen Pilzen beimpft. Die Reaktionsbestimmung der Pilzfiltrate erfolgte auf elektrometrischem Wege nach der Chinhydronmethode. Dabei wurde der p_H -Wert des Pilzfiltrates jedes einzelnen Köchens gemessen. Die in Tab. 2* aufgeführten Werte sind das arithmetische Mittel aus den Einzelmessungen. Die Bestimmung erfolgte je nach Wachstumszeit des Pilzes nach 10, 20 oder 28 Tagen.

Die auf flüssigen Nährsubstraten kultivierten Pilze verändern im allgemeinen mehr oder weniger tiefgreifend die Reaktion in

Mediums. Diese Änderung beruht einerseits zum Teil auf der bevorzugten Aufnahme bestimmter Anionen oder Kationen, andererseits können die Pilze selbst durch ihre Stoffwechsellätigkeit, z.B. durch die Bildung von Ammoniak oder organischen Säuren, Reaktionsänderungen hervorrufen. Nur so ist es zu verstehen, daß ein und derselbe Pilz die Wasserstoffionenkonzentration auf verschiedenen Nährlösungen in verschiedener Weise zu verändern vermag. Wie bereits kurz erwähnt, sind die Nährlösungen nach Czapek-Dox und Czapek-Thom durch die Gegenwart von NaNO_3 physiologisch alkalisch, da infolge Aufnahme des Stickstoffs das Kation angereichert wird. Umgekehrt ist die Raulin-Nährlösung durch Aufnahme von NH_4^+ und Freiwerden des Anions physiologisch sauer.

In der Tat erzeugen die Pilze auf Czapek-Dox und Czapek-Thom Stoffwechselprodukte mit neutraler bis alkalischer Reaktion. Von den Mucoraceae bilden *Mucor hiemalis* und *Rhizopus nigricans* eine Ausnahme dieser Regel. Verantwortlich für die Säuerung der physiologisch alkalischen Nährlösungen dürfte hier die Bildung von organischen Säuren sein. Die Produktion von Fumar-, Bernstein-, l-Äpfelsäure und d-Milchsäure stellten Bernhauer und Thole¹⁶⁾ bei *Rhizopus*-arten fest. Bei den Ascomyceten stellt *Aspergillus niger* eine Ausnahme dar, dessen starke Säureabgabe in die Nährlösung ebenfalls bekannt ist. Die Bildung zahlreicher organischer Säuren, sowie die Fähigkeit Oxalsäure anzureichern, dürften die Säuerung der Kulturflüssigkeit bedingen. Dadurch kann die physiologische Alkalität der Nährlösung nicht zur Geltung kommen. Das stark saure Kulturfiltrat unterdrückt weitgehendst die Autolyse, die zumeist erst nach 60 Tagen, oft noch später, begleitet von einem langsamen Ansteigen des p_H -wertes, eintritt. Allerdings war festzustellen, daß *Aspergillus niger* nach zweijähriger Kultur nicht mehr die hohen Säuregrade erreicht wie zu Anfang. Der p_H -Wert fiel nur noch bis 3,0-3,5 ab. Bei alten Kulturen soll nach Peters und Rippe-Baldes¹⁷⁾ die Zitronensäurebildung zurückgehen. Auch die Autolyse setzte in diesem Falle früher ein (nach ca. 30 Tagen). Die Kulturflüssigkeiten von *Verticillium affine*, *Blastotrichum puccinoides* und *Cladosporium herbarum* erhöhen anfänglich auf Czapek-Thom ihre Acidität (p_H 5,6; 5,3; 5,5), um dann aber, wahrscheinlich infolge Zerstörung der gebildeten organischen Säuren, bis über den Neutralpunkt hinaus anzusteigen (Abb. 13 S. 28).

In der physiologisch sauren Nährlösung wird der p_H -Wert durch die Stoffwechsellätigkeit der Pilze noch weiter in den sauren Bereich verschoben. Eine Ausnahme macht *Aspergillus niger*, der zwar in den ersten Tagen seiner Entwicklung den p_H -Wert um eine Einheit senkt, ihn dann aber im weiteren Wachstumsverlauf bis zum Neutralpunkt hin verschiebt. Der anfängliche p_H -Abfall deckt sich mit den zahlreichen Literaturangaben, daß *Aspergillus niger* in ernährungsphysiologischer Hinsicht ein ausgesprochener Ammoniakpilz ist¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾ und daß er nach F. Boas und H. Leberle²²⁾, sowie F. Boas²³⁾ aus einem Gemisch verschiedener N-Quellen stets das Ammoniak bevorzugt assimiliert. (Im Gegensatz dazu bevorzugen z.B. *Cladosporium herbarum* und *Mucor racemosus* Nitrat als N-Quelle und werden von Laurent²¹⁾ als Nitratpilze bezeichnet). K. Rippel²⁴⁾ konnte in seiner ausführlichen Arbeit über "Untersuchungen über die Abhängigkeit der N-Assimilation von der Wasserstoffionenkonzentration" den quantitativen Beweis erbringen. Die Frage der N-Assimilation der Pilze stand schon um die Jahrhundertwende im Brennpunkt des Interesses. Eine große Anzahl von Verfassern, von denen hier nur einige Namen wie Raulin, Czapek, Nägeli, Brenner, Laurent aufgezählt werden sollen, befassten sich mit diesem Problem. So kam man zu dem übereinstimmenden Ergebnis, daß Ammoniak die günstigste anorganische N-Quelle darstellt. 1929 wurde von H. Pfeiffer²⁵⁾ der Begriff des Robbins-Effekts eingeführt, der besagt, daß links vom isoelektrischen Punkt die Anionen, rechts davon die Kationen vom Plasma bevorzugt aufgenommen werden. W. Mevius²⁶⁾²⁷⁾ und K. Pirschle²⁸⁾ stellten fest, daß im sauren und alkalischen Bereich Nitrat, im schwach sauren Bereich Ammoniak bevorzugt assimiliert werden. K. Rippel versuchte nun im Verlauf obig angegebener Arbeit auch die Abhängigkeit einiger Pilze vom Robbins-Effekt zu ergründen und kam zu dem Ergebnis, daß *Aspergillus niger* sich nicht dem Robbins-Effekt einfügt, sondern stets, unabhängig von der Reaktion der Ausgangslösung zuerst das Ammoniak aufnimmt. Der anfängliche p_H -Abfall von *Aspergillus niger* auf Raulin-Nährlösung und Wiederanstieg bis zum Neutralpunkt ist nun nach verschiedenen Gesichtspunkten zu beurteilen und führt zu folgenden Hypothesen:

1. Als Ammoniakpilz, der sich nicht dem Robbins-Effekt einfügt, verbraucht der hier kultivierte Stamm zunächst das Ammoniak,

wodurch die physiologische Acidität der Nährlösung zur Geltung kommt. Erst wenn das gesamte Ammoniak assimiliert ist, greift der Pilz zur Deckung seines N-Bedarfs das Nitrat an und reduziert dieses wieder zu Ammoniak. Diese Reduktion, die im chemischen Laboratorium nur mit den stärksten Reduktionsmitteln gelingt, soll nach Brenner²⁹⁾ intrazellulär verlaufen (Laurent spricht diese Fähigkeit auch *Mucor racemosus* zu).

2. Der Pilz bildet aus den zugeführten C- und N-Quellen organische und anorganische Säuren - *Aspergillus niger* soll bei Ammonsulfat als N-Quelle auch Schwefelsäure produzieren können²²⁾ - und zerstört bzw. assimiliert diese im weiteren Verlauf des Wachstums.
3. Als C-Quelle werden *Aspergillus niger* in der Raulin-Nährlösung Glukose und Weinsäure geboten. Glukose als bevorzugte C-Quelle wird zuerst verbraucht, während die Weinsäure zunächst unberührt bleibt. Nach ca. 8 Tagen hat der Pilz die Glukose verbraucht und beginnt dann die Weinsäure anzugreifen. Eine nicht unwesentliche Rolle für den p_H -Anstieg dürfte auch der Autolyse zuzusprechen sein, die bei *Aspergillus niger* schon nach zehntägigem Wachstum einsetzen kann und in deren Verlauf stets Ammoniak gebildet wird. Im schwach sauren bzw. neutralen oder alkalischen Bereich tritt sie viel eher ein als im stark sauren Gebiet¹²⁾. Da *Aspergillus niger* den p_H -Wert der Raulin-Nährlösung in den neutralen Bereich verschiebt, kann man die Erscheinung der Autolyse hier viel früher beobachten als auf Czapek-Dox und Czapek-Thom, in welchen der p_H -Wert stark absinkt. Die Begleiterscheinungen der Autolyse sind die rot-bis dunkelbraune Farbe der Kulturflüssigkeit und die weich-schmierig werdende Pilzdecke.

Ein Kriterium für die Reaktionsänderung des *Aspergillus*-Stoffwechselproduktes gibt rein äußerlich die Sporenbildung. Im sauren Bereich wird diese weitgehendst unterdrückt. Sie beschränkt sich deshalb auf Raulin-Nährlösung in den ersten Tagen der Entwicklung des Pilzes nur auf eine schmale randständige Zone der sehr kräftigen Myzeldecke. Erst bei abnehmender Acidität beginnt eine regere Sporenbildung.

Pilz	Czapek-Dox pH _a = 6,0		Czapek-Thom pH _a = 6,5		Raulin pH _a = 3,	
	Wachstum	Sporenb.	Wachstum	Sporenb.	Wachstum	Sporenb.
Rhizop.nigr.	--	--	+	++	+++	+
Mucor hiemal.	-	--	--	--	+	
Mucor racem.	+++	+++	+++	+++	-	
Asperg. niger	+++	+++	++	+++	++	++
Vert.glaucum	++	+++	+	++	-	--
Vert.affine	-	-	+++	+++	--	--
Blast.puccin.	+++	+++	++	++	-	--
Peric.thebaica	+++	+++	++	+	-	--
Cladosp.herb.	++	++	+	+	-	--
Stemph.botr.	+++	+++	++	++	-	--
Fusar.oxysp.	+++	+++	++	++	-	--
Fusar.floccif.	++	+++	+	++	-	-

Tabelle 1

Wachstumsintensität und Sporenbildung der einzelnen Bodenpilze
Czapek-Dox-, Czapek-Thom- und Raulin-Nährlösung.

Bedeutung der Bezeichnungen:

+++ = optimales Wachstum bzw. Sporenbildung
 ++ = gutes " " "
 + = mäßiges " " "
 - = schlechtes " " "
 -- = kein " " "

Pilz	Czapek-Dox		Czapek-Thom		Raulin	
	pH _e	Farbstoffb.	pH _e	Farbstoffb.	pH _e	Farbstoff
Rhizop.nigr.	-	--	4,3	schwachgelb	2,1	schwachgelb
Mucor hiemal.	3,9	farblos	5,2	farblos	2,6	farblos
Mucor racem.	7,9	gelb	7,0	gelb	3,3	schwachgelb
Asperg. niger	2,0	orange-gelb	2,4	gelb	7,0	dunkelbraun
Vert. glaucum	8,0	gelb	7,1	gelb	2,4	farblos
Vert. affine	6,4	hellrot	7,7	orange - rot	-	--
Blast.puccin.	8,1	orange-braun	7,4	gelb	2,9	farblos
Peric.thebaica	7,5	grün-gelb	7,0	gelb	2,9	farblos
Cladosp.herb.	7,7	hellgelb	7,0	farblos	3,3	farblos
Stemph.botr.	8,1	hellgelb	7,8	gelb	3,1	farblos
Fusar. oxysp.	8,1	tiefrot	7,9	dunkelorange	3,5	rosa
Fusar.floccif.	8,0	gelb	6,9	gelb	3,2	farblos

Tabelle 2

pH-Werte, sowie Farbe der Kulturfiltrate der verschiedenen Bodenpilze auf Czapek-Dox-, Czapek-Thom- und Raulin-Nährlösung

Die pH-Werte der unbewachsenen Nährlösungen (pH_a) entsprechen denjenigen von Tabelle 1.

IV. Auswahl der Pilze

Für den Hauptversuch konnten nicht alle hier isolierten Pilze herangezogen werden, da sich dessen Durchführung mühselig und auch einigermaßen langwierig gestaltete. Es wurde deshalb eine bestimmte Auswahl getroffen, die nach folgenden Gesichtspunkten durchgeführt wurde:

1. Verschiedene systematische Einordnung
2. Starke Verbreitung im Boden
3. Gutes Wachstum auf dem Nährsubstrat
4. Lebhaftige Stoffwechseltätigkeit
5. Eventuelle Farbstoffabgabe in das Substrat
6. Eventuelle Antibiotikaproduktion.

A. Die beachtenswerteste Ordnung der Phycomycetes, die Zygomycetes, umfasst Organismen, die im Erdboden zahlreich vertreten sind. Ihrer wichtigsten Unterordnung, den Mucorineae, mit der Familie der Mucoraceae, gehören Schimmelpilze an, die vielfach eine weltweite Verbreitung haben und an den Umsetzungen im Boden maßgeblich beteiligt sind. Die Phycomycetes wirken im allgemeinen weder bakteriostat noch baktericid. Hemmstoffe sollen nach Vogel³⁰⁾ nur in einem Falle bekannt sein. Die Möglichkeit ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß Phycomyceten infolge ihrer physiologischen Tätigkeit Stoffwechselprodukte abgeben, die spezifisch auf höhere Pflanzen wirken können.

Alle drei hier isolierten Vertreter der Mucoraceae sind verbreitete Bodenpilze. Die Wahl fiel auf

Mucor racemosus. Er ist der robusteste Pilz, da er im Gegensatz zu *Rhizopus nigricans* und *Mucor hiemalis* auf allen Nährlösungen das durchschnittlich beste Wachstumsergebnis zeigt. Obwohl er in einem p_H -Bereich zwischen 7 und 8 sein Wachstumsoptimum erreicht, bildet er auf Raulin-Nährlösung, die einen p_H -Wert von 3,5 aufweist, teilweise noch geschlossene Pilzdecken aus. Auch die Sporenbildung ist sehr reichlich. *Rhizopus nigricans* wächst zwar hervorragend auf Raulin-Nährlösung, bildet dagegen auf Czapek-Lox und Czapek-Thom nur suberse Myzelschleier aus. Zudem beeinträchtigt die Nährlösung nach Raulin das Wachstum höherer Pflanzen, wie Versuche bewiesen. *Mucor hiemalis* wächst auf Czapek-Thom gar nicht, auf den beiden anderen Nährlösungen sehr schlecht.

B. Die hier isolierten und nach dem künstlichen System bestimmten Pilze der Klasse Ascomycetes reihen sich in die wichtigste Ordnung des Hyphomycetes ein, der unsere bekanntesten Bodenpilze zugehören. Zur besseren Übersicht wird hier eine kurze systematische Einordnung der Hyphomycetes gegeben. Sie gliedern sich nach Rubenhorst in folgende 4 Familien und deren Abteilungen bzw. Sporengruppen auf:

I. Fam. Mucedinaceae

- 1.Abt. Hyalosporae: U.Abt. Aspergillae und Verticilliae
Gttg.: Aspergillus (niger*)
Verticillium (glaucom)
Verticillium (affine)
- 2.Abt. Hyalodidamae
- 3.Abt. Hyalophragmiae Gttg.: Blastotrichum (puccinides*)
- 4.Abt. Hyalohelicosporae
- 5.Abt. Hyalostaurosporae

II. Fam. Dematiaceae

- 1.Abt. Phaesporae: U.Abt. Periconiaeae
Gttg.: Periconia (thebaica)
- 2.Abt. Phaeodidymae: U.Abt. Cladosporeae
Gttg.: Cladosporium (herbarum)
- 3.Abt. Phaeophragmiae
- 4.Abt. Phaeodictyae: U.Abt. Macrosporaeae
Gttg.: Stemphylium (botryosum)
var. botrytis *

III. Fam. Stilbaceae

IV. Fam. Tuberculariaceae

U.Fam. Tubercularia mucedineae

1.Abt. Hyalosporae

2.Abt. Hyalophragmiae: Gttg. Fusarium *

U.Fam. Tubercularia dematieae

Abt. Phaeosporae

Von der Familie der Stilbaceae wurde kein Vertreter isoliert. Die mit Stern versehenen Pilze dienten als Versuchsobjekte.

Nachstehend aufgeführte Ascomyceten wurden für den Hauptversuch ausgewählt:

1. Aspergillus niger als Testorganismus, da er im Boden sehr zahlreich vertreten ist und seine Lebensfunktionen weitgehendst erforscht sind. Bekannt ist, daß er Antibiotika in die Nährlösung ausscheidet.

2. Verticillium glaucum ist ein sehr bekannter Bodenpilz und maßgeblich an den Stoffumsetzungen im Boden beteiligt. Von den Verticilliumarten ist bekannt, daß Hemmstoffe abgegeben werden.
3. Blastotrichum puccinoides var. x wegen seiner starken Farbstoffabgabe in das Nährsubstrat. Farbstoffe, die nach außen abgeschieden werden, sollen vielfach antibiotisch wirksam sein.
4. Cladosporium herbarum als Vertreter der Schwärzepilze und der Rußtaupilze, so genannt, da sie schwarze Überzüge, den "Rußtau" auf Blättern und Zweigen bilden. Der Pilz zeigt weite Verbreitung auf der ganzen Erde und gilt als der am häufigsten in der Luft vorkommende Pilz⁹⁾.
5. Stemphylium botryosum var. botrytis als Vertreter der wichtigen Unterabteilung Macrosporiceae.
6. Fusarium oxysporum als Vertreter der Gattung Fusarium, die viele pathogene Formen enthält. Fusarium oxysporum wurde infolge seiner starken Farbstoffabgabe, die die Nährlösung tiefdunkelrot färbt und wegen seines bedeutend besseren Wachstums dem Fusarium flocciferum vorgezogen. Er ist ein starker Fettspeicherer und kosmopolitisch verbreitet.

Mit dieser Auswahl wurde versucht, den oben genannten Punkten Rechnung zu tragen.

V. Auswahl der Pilznährlösung.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird der in Knopscher Nährlösung wachsenden höheren Pflanze die Pilznährlösung zusammen mit dem Stoffwechselprodukt des jeweiligen Pilzes in verschiedenen Konzentrationen zugegeben. Vermutlich wird sich das Pilzstoffwechselprodukt in irgend einer Weise auf die Pflanze auswirken. Zum anderen kann aber auch das Nährsubstrat des Pilzes selbst die höhere Pflanze beeinflussen.

Um hier konstante und stets reproduzierbare Verhältnisse zu schaffen, sollte nur eine einzige Pilznährlösung Anwendung fin-

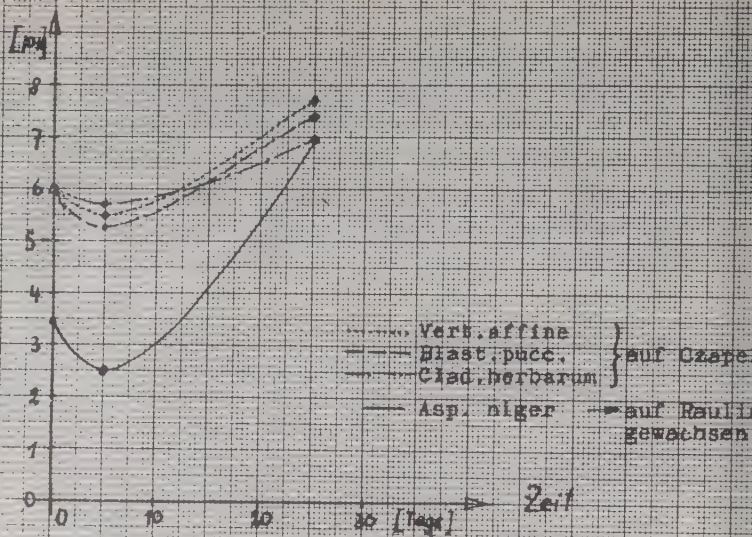


Abb. 13. Die p_H -Werte einiger Pilzfiltrate in Abhängigkeit von der Zeit.

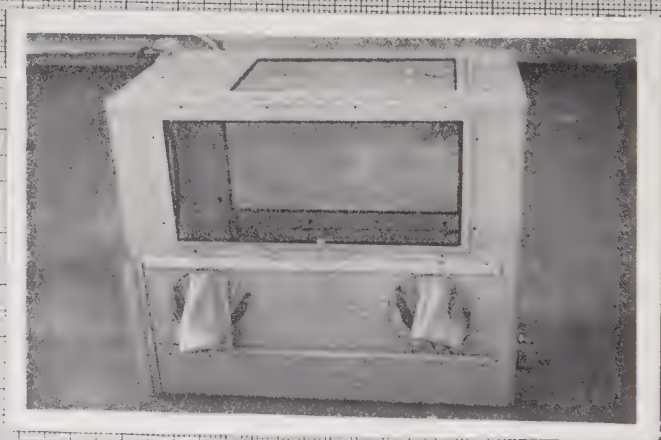


Abb. 14. Sterile Kammer.

den. Erfreulicherweise ergab sich, daß die Nährlösung nach Czapek-Dox bis auf wenige Ausnahmen für das Wachstum der hier isolierten Pilze das günstigste Medium darstellt. (P. Boss³¹⁾ bezeichnet jenen Nährstoff als vorzüglich geeignet, bei dem "Myzelwachstum stark und gleichzeitig Konidienbildung rasch und intensiv erfolgt". Aus diesem Grunde wurde die Kultivierung der für die Wachstumsversuche ausgewählten Pilze stets auf Czapek-Dox-Nährlösung durchgeführt.

Zusätzlich wurde noch untersucht, ob die Czapek-Dox-Nährlösung selbst in irgend einer Weise das Wachstum der höheren Pflanze beeinflußt. Man ging dabei so vor, daß man zur Knopschen Nährlösung 2 ccm und 15 ccm (Konzentrationen wie bei den später zur Beschreibung kommenden Versuchen mit den Pilzstoffwechselprodukten) unbewachsene Czapek-Dox-Nährlösung gab. Der darin gewachsene Mais zeigte wie die Kontrollpflanzen normales Wachstum.

VI. Beschreibung der Versuchsanordnung

Gewinnung der Pilzfiltrate

30 - 40 Engshals-Erlenmeyerkolben (100ccm) wurden mit je 25ccm Czapek-Dox-Nährlösung beschickt (die Nährlösung war mit n HCl auf $p_H=6,0$ eingestellt worden), mit Wattestopfen versehen und an zwei hintereinanderliegenden Tagen je eine halbe Stunde im strömenden Dampf sterilisiert. Diese fraktionierte Sterilisation hat zur Folge, daß Bakteriensporen, die durch einmaliges Sterilisieren nicht getötet werden, bis zur nächsten Sterilisation auskeimen. Als vegetative Formen überstehen sie keinesfalls die Siedehitze.

Da bei der angegebenen Zuckerkonzentration von 50g/1000 ccm in der der höheren Pflanze gebotenen, mit dem Stoffwechselprodukt des Pilzes versetzten Knopschen Nährlösung des öfteren Infektionen auftraten, wurde der Zuckergehalt auf 25g/1000 ccm Leitungswasser herabgesetzt. Die geringere Zuckerkonzentration wirkte sich von nun an in keiner Hinsicht negativ auf die Entwicklung der Pilze aus. Die Kultivierung er-

folgte bei einer Temperatur von 18-24°C (je nach Wetterlage verschieden) bei diffusem Tageslicht.

Nach Ausbildung einer schönen, das gesamte Substrat überziehenden Pilzdecke mit reichlicher Sporenentwicklung erfolgte die Trennung der Pilzdecke von ihrem Stoffwechselprodukt. Anschließend wurde die pH-Wertbestimmung der Kulturflüssigkeit auf elektrometrischem Wege mittels der Chinhydronelektrode durchgeführt. Die Sterilisation der Kulturflüssigkeit wurde durch Unterdruckfiltration mit Hilfe der Seitzschen EntkeimungsfILTER erreicht. Die EntkeimungsfILTER (E.K.-filter) bestehen im wesentlichen aus einer Art Asbestpappe, die in besondere Filterapparate eingelegt und auf eine Saugflasche aufgesetzt werden. Filter und Saugflasche sind vor der Filtrierung sterilisiert worden. Da die E.K.-Filter nur eine sichere Zurückhaltung der vegetativen Formen gewährleisten, wurde fraktioniert entkeimt, d.h. an drei hintereinanderliegenden Lagen filtriert und das so erhaltene Filtrat in trockensterilisierte 300 ccm Erlenneyerkolben übergeführt.

7) Anzucht von Mais

Die anfänglichen Versuche wurden mit Erbsen und Lein durchgeführt. Trotz sorgfältigster Arbeitsmethoden erwiesen sich die beiden Pflanzen Infektionen gegenüber als so anfällig, daß sie bald von dem bedeutend resistenteren Mais abgelöst wurden. Für die Untersuchungen wurde die Sorte "Badischer Landmais" verwendet.

Zur Gewinnung keimfreien Pflanzenmaterials wurden die Maisfrüchte nach Entfernung des häufig durch Pilze infizierten Fruchtstiels nach der Methode von Stolp³²⁾ sterilisiert. Die Sterilisation erwies sich als dringend notwendig, da probeweise durchgeführte Keimversuche, bei denen der Mais nicht sterilisiert worden war, vielfach starke Infektionen aufwiesen. Die Keimfähigkeit der Früchte wird durch die Sterilisation nicht beeinträchtigt. Die Sterilisation gliedert sich in Vor- und Hauptsterilisation.

1. Vorsterilisation:

- a) Schütteln der Früchte in Seifenlösung 5 Min.
- b) Spülen in fließendem Wasser 30 Min.
- c) Ätherbad 45 Sek.

- d) Spülen in fließendem Wasser 15 Min.
- e) Einlegen der Früchte in 0,1% Sublimat-Saponin im Vakuum 5 Min.
- f) Nachspülen mit aqua dest.

2. Hauptsterilisation

Die erfolgte in einer von Stolp angegebenen Apparatur mit 0,75%igem Bromwasser 6 Minuten im Vakuum. Nach der Sterilisation wurden die Früchte mit sterilem aqua dest. von dem noch anhaftenden Bromwasser gereinigt. Die Früchte wurden dann 12 Stunden lang in dem Sterilisationsgefäß der Apparatur zur Quellung belassen.

Die Anzucht der Maiskeimlinge erfolgte in sterilen Keimschalen, auf mit Leitungswasser durchtränkten Quarzsand im Dunkeln. Die erfolgreiche Methode, die Maisfrüchte aufzusäen, auf feuchtem Filtrierpapier ausgelegten Keimschalen zur Keimung anzusetzen, erwies sich wegen hin und wieder auftretender Infektionen als weniger günstig.

Vorbereitungen für die Wachstumsversuche

Als Kulturmedium für die Aufzucht von Mais diente die Hührlösung nach Knop. Die zur Verwendung kommenden Erlenmeyerkolben (100 ccm Engshals oder Weithals) wurden drei Stunden bei 140°C der Heißluftsterilisation unterworfen, nach Abkühlung mit steriler Knopscher Nährlösung gefüllt, mit einfach durchbohrten Korken verschlossen, das Loch im Korken durch Watte verstopft und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je eine halbe Stunde im strömenden Dampf erhitzt. Die weitere Durchführung erfolgte in einer eigens zu diesem Zwecke konstruierten sterilen Kammer, die aus Abb. 14 ersichtlich ist. An der vorderen Seite sind Handschuhe angebracht, die das sterile Hantieren im Innern ermöglichen. Trotz der einfachen Schiebetür wird ein steriles Einschleusen der Geräte weitgehendst erreicht, indem man einen dauernden, mit KMnO_4 und Sublimat gereinigten Luftstrom durch die Kammer preßt, sodaß ein Eindringen der Keime auch bei offener Tür vermieden werden kann. Durch entsprechende Anschlüsse kann im Innern der Kammer abgeflammt und ein Piavettieren von außen gesteuert werden. Die Sterilisation des Kastens erfolgte durch fraktioniertes Ausdampfen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde und Aussprühen mit 70%igem Alkohol mittels Zerstäuber.

Die aus dem Dampftopf genommenen noch heißen Kölbchen, sowie die sterilisierfähigen zur Verwendung gelangenden Geräte, wurden in die sterile Kammer übergeführt und dort nochmals sterilisiert. Die Trocknung der Kammer erfolgte durch Einstellen von CaCl_2 . Danach wurden die Keimschalen mit den Keimlingen, sowie die Kolben mit dem Pilzstoffwechselprodukt nach vorheriger äußerer Reinigung mit Sublimat und anschließendem Abflammen ebenfalls in die sterile Kammer eingeschleust. Der nächste Arbeitsgang bezog sich auf das Zupipettieren des Pilzfiltrates (2ccm, 5ccm, 10ccm, 15ccm) mit Hilfe einer sterilen Pipette zu den mit Knopscher Nährlösung gefüllten Kölbchen. Die Kontrollpflanzen bekamen stets je 5ccm unbewachsene Czapek-Dox-Nährlösung beigegeben. Anschließend erfolgte vorsichtiges Überführen der Keimpflanzen (Wurzellänge 4-6cm) durch Entfernen des Wattepfropfens aus den Korken in die vorbehandelten Kölbchen. Jedes Pflänzchen wurde mit steriler Watte umgeben und, um Fremdinfectionen zu vermeiden, die Korken mit Paraffin bestrichen. Nach Fertigstellung wurden die Kölbchen der sterilen Kammer entnommen und mit schwarzen, abnehmbaren Papiermanschetten umgeben, um sowohl natürliche Umweltsbedingungen zu gewährleisten, als auch Algenentwicklung an den Wurzeln zu vermeiden.

Wie schon oben erwähnt, weisen die Stoffwechselprodukte eine mehr oder weniger starke Azidität oder Basizität auf. Sie werden der Knopschen Nährlösung in bestimmten Konzentrationen zugeführt, wodurch sich zwangsläufig deren pH-Wert verändert. Es interessiert nun, wie groß die Wasserstoffionenkonzentration des Nährmediums ist, in dem die Maispflanze kultiviert wird. In Tabelle 3 sind einmal die pH -Werte der Pilzstoffwechselprodukte (pH_e) wiedergegeben, zum andern wird der pH -Wert der Knopschen Nährlösung + Pilzstoffwechselprodukt (pH_n) aufgezeigt. Die Konzentrationen sind 0, 2, 5, 10, 15 ccm Stoffwechselprodukt auf rund 130ccm Knopsche Nährlösung. Die pH -Werte der Nährlösung für die Kontrollpflanzen wurden mit pH_k bezeichnet.

Alle angegebenen Werte der einzelnen Pilze sind Durchschnittswerte von mehreren Versuchsreihen. Die pH -Wertbestimmung wurde auf elektrometrischem Wege mittels der Chinhydronelektrode durchgeführt.

Pilz	pH _n						
	pH _a	pH _e	pH _k	2ccm	5ccm	10ccm	15ccm
Mucor racem.	6,0	7,9	5,6	5,95	6,17	6,4	6,54
Aspergillus nig.	6,0	2,0	5,6	3,8	3,4	2,5	2,3
Vert. glaucum	6,0	8,0	5,6	5,9	6,06	6,39	6,55
Blast.puccinoid.	6,0	8,1	5,6	5,92	6,28	6,48	6,62
Cladosp.herb.	6,0	7,8	5,6	5,87	6,3	6,5	6,7
Stemph.botryos.	6,0	8,1	5,6	5,83	6,28	6,48	6,68
Fusarium oxysp.	6,0	8,1	5,6	5,73	6,1	6,35	6,55

Tabelle 3

pH-Werte der Pilzstoffwechselprodukte und der der Maispflanze gebotenen Nährlösung.

Bedeutung der Bezeichnungen:

pH_c = pH-Wert der unbewachsenen Czapek-Dox-Nährlösung

pH_e = " " Pilzstoffwechselprodukte

pH_k = " " Knopschen Nährlösung + 5ccm unbewachsene Cz.-Dox (Kontrolle)

pH_n = " " " " + Pilzstoffwechselprodukt in verschiedenen Konzentrationen

D) Messungen, Mittelwert, Streuwert.

1. Messungen:

Von jedem betrachteten Pilz wurde eine Versuchsserie durchgeführt, die aus mehreren (meist 3-4) Versuchen bestand. Jedem Versuch lagen rund 10 Pflanzen einer jeden Konzentration zugrunde. Da die Bedingungen, unter denen die Keimlinge aufwuchsen, von Versuch zu Versuch wechselten (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Belichtung), wurde die Zeitspanne des Wachstums nicht genau begrenzt, sondern schwankte zwischen 9-12 Tagen, um eine möglichst ausgeglichene Größe der Maispflanzen zu gewährleisten. Die relative Schädigung blieb trotz nicht konstanter Umweltsbedingungen im großen und ganzen dieselbe.

Zur Messung gelangten:

Länge der Hauptwurzel	Länge des Sprosses
Länge der Seitenwurzeln	Länge der Blattspreiten
Anzahl der Seitenwurzeln	Anzahl der Blätter.
Länge der ganzen Pflanze	

2. Wägung

Nach abgeschlossener Messung erfolgte die Wägung und zwar Sproß- und Wurzelsystem getrennt. Es wurden sowohl das Frischgewicht (nach Abtrocknung des Wassers) als auch das Trockengewicht (nach gründlicher Trocknung bei 120°C) ermittelt.

3. Mittelwerte

Die Länge der einzelnen Pflanzen war unterschiedlich. Man konnte sich deshalb auf einen Mittelwert einigen, der im allgemeinen das arithmetische Mittel aller Messungen ist.

$$M = \frac{\sum x}{n}$$

M = Mittelwert

x = einzelne Messung

$\sum x$ = Summe der Einzelmessungen

n = Anzahl der Messungen

4. Streuwerte

Der Mittelwert ist umso gesicherter, je näher sich die einzelnen Meßpunkte um diesen gruppieren. Um diese Unsicherheit quantitativ festzulegen, ist man auf die Einführung eines Streumaßes angewiesen. Der Streuwert oder die Standardabweichung gibt an, um wieviel der erhaltene Mittelwert falsch sein kann.

Das Streumaß σ der einzelnen Messung =

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum (x - M)^2}}{\sqrt{n}}$$

Das Streumaß ξ des arithmetischen Mittels ist selbstverständlich kleiner. Es lautet:

$$\xi = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} = \frac{\sqrt{\sum (x - M)^2}}{\sqrt{n \cdot (n-1)}}$$

Z.B. zeigt das Streumaß ξ an, um wieviel der errechnete Wert des arithmetischen Mittels ungesichert ist.

2. Teil

Wachstumsversuche.

I. Testversuch mit Aspergillus niger.

Die mit *Aspergillus niger* durchgeführten Betrachtungen sind beispielgebend für alle übrigen hier verwendeten Pilze. Deshalb wurde die durch seine Stoffwechselprodukte hervorgerufene Wirkung auf die höhere Pflanze besonders genau studiert.

A. Untersuchung der allgemeinen Versuchsbedingungen.

Voraussetzung für gesicherte Versuchsergebnisse sind neben konstanten Versuchsbedingungen die Ausschaltung systematischer Fehlerquellen. Alle hier maßgeblich einwirkenden Faktoren sollen nachstehend aufgeführt werden:

Ausschaltung von Infektionen. Der praktischen Durchführung dieser Arbeit stellten sich anfangs durch starke Fremdinfectionen erhebliche Schwierigkeiten entgegen. Weitgehende Keimfreiheit wurde erst durch die bereits beschriebenen Vorsichtsmaßregeln erreicht, wie Sterilisation des Pflanzenmaterials und aller der mit Mikroben oder Mais in Berührung kommenden Gefäße oder Geräte, durch fraktionierte Filtration des Stoffwechselproduktes und durch Ansetzen der Versuche in einer sterilen Kammer. Überdies wurde der Zuckergehalt der Czapek-Dox-Nährlösung von 50g/1000ccm Leitungswasser auf 25g/1000ccm Leitungswasser reduziert. Dennoch infizierte Maispflanzen, erkennbar an einem dünnen Myzelschleier an der Wurzelspitze, wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt.

Chemische Nährlösung und Czapek-Dox Nährlösung sind, da deren Zusammensetzung vorgeschrieben ist, genau kontrollierbar. Nicht einzubeziehen in diese Kontrollierbarkeit sind

die Pilzfiltrate selbst. Da sich die Versuche mit *Aspergillus niger* über ein ganzes Jahr hingen, wurde davon Abstand genommen, die Pilzfiltrate einmalig in einer größeren Menge herzustellen. Man mußte befürchten, daß sich an ihnen unkontrollierbare chemische Veränderungen vollziehen könnten. Deshalb wurden

sie für jeden Versuch neu gewonnen und in den bereits beschriebenen Konzentrationen zu den in Knopscher Nährlösung wachsenden Maispflanzen gegeben. Da es nicht im Aufgabenbereich dieser Arbeit lag, die Pilzfiltrate chemisch zu analysieren, konnte man sich lediglich auf eine genau festgelegte Wachstumszeit des Pilzes beschränken, um etwa gleiche Konzentrationen der einzelnen Pilzfiltratansätze zu erreichen. Mit der Wachstumsdauer verändert sich die Wasserstoffionenkonzentration, wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist.

Zeit (Tage)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p _H -Wert	6,0	6,0	6,0	5,7	5,3	4,3	3,0	2,5	2,0	2,0	2,0

Tabelle 4

p_H-Wertänderung des Stoffwechselproduktes von *Aspergillus niger* in Abhängigkeit von der Zeit (Durchschnittsaus sämtlichen Versuchen).

Nach 8-12 Tagen (Ausbildungszeit für eine kräftige, geschlossene Pilzdecke) ist das Optimum der Stoffwechsellätigkeit bestimmt erreicht, wenn nicht schon überschritten. Ferner ist anzunehmen, daß zu diesem Zeitpunkt die gebotenen Nährstoffe zum großen Teil verbraucht sind, daß möglicherweise der Pilz sogar schon gebildete Stoffwechselprodukte angreift. So ergaben Untersuchungen von K. Bernhauer³³⁾, daß der Zuckerverbrauch bei *Aspergillus niger* in Gegenwart von N-Salzen sehr rasch erfolgt. Am siebten Tag der Kulturdauer soll bereits kein Zucker mehr nachweisbar sein. Ähnlich rasch soll die N-Assimilation vor sich gehen, die von K. Rippel²⁴⁾ eingehendst untersucht wurde. Ein Kriterium dafür mag in der oben erwähnten Tatsache liegen, daß der Pilz nach zehntägigem Wachstum seinen p_H-Wert nicht mehr ändert. Die p_H-Wertänderung gestattet nun, auch für die Pilzfiltrate reproduzierbare Verhältnisse zu schaffen. Zum Nachweis wurden nicht nur Pilzfiltrate mit einem p_H-Wert von 2,0 in den Versuchen herangezogen, sondern auch solche mit den p_H-werten 3,0 und 5,0.

Sie wurden durch eine kürzere Wachstumsdauer des Pilzes erreicht. Wenn die p_H -Werte 3,0 und 5,0 ihrerseits systematische Wachstumsänderungen hervorrufen, ist anzunehmen, daß die p_H -Wertbestimmung als Maß für die Pilzfiltratkonzentration gelten kann. Dies ist auf Seite 52 nachgewiesen.

4. Als Versuchspflanze wurde stets die Sorte "Badischer Landmais" verwendet.
5. Die Keimung der Maisfrüchte erfolgte im Dunkeln bei einer Temperatur von 18-22°C. Hatte die Mehrzahl der Keimlinge eine Wurzellänge von 4-6cm erreicht, wurden sie nach der unter Punkt 6 beschriebenen Methode für den Hauptversuch ausgewählt
6. Auswahl der Keimlinge. Obwohl für jeden Versuch eine große Anzahl von Mais zur Keimung angesetzt wurde, reichte diese selten aus, um nur Pflanzen gleicher Wurzellängen zu den Experimenten heranzuziehen. Aus diesem Grunde wurde ermittelt, ob zwischen der Ausgangslänge der Keimwurzel und der Wurzellänge nach Versuchsbeendigung eine Beziehung besteht. In Abb. 15 ist als Ordinate die Länge der Keimwurzeln bei Versuchsbeginn und als Abszisse die Länge der Wurzeln nach Beendigung des Versuches aufgetragen. Eindeutig geht aus den zumeist parallel verlaufenden Linien des Kurvenbildes hervor, daß größere Anfangslängen auch größere Endlängen zur Folge haben und umgekehrt. Wenn beispielsweise die Anfangslängen der Wurzeln im Verhältnis 1:2 variieren, so ist der Streubereich der Endlängen der einzelnen Wurzel auch nicht größer als 1:2. Dies trifft allerdings nur für die Hauptwurzeln zu. Auf die Seitenwurzeln hat die Anfangslänge der Keimwurzel keinen Einfluß mehr. Bei höheren Konzentrationen findet kaum mehr ein Zuwachs statt, sodaß die Endlänge ungefähr der Anfangslänge entspricht (siehe auch Tab.6, S.49). Auf Grund dieser Beobachtungen wurde dafür Sorge getragen, daß für jede Konzentration eines Versuches nur solche Pflanzen herangezogen wurden, deren Wurzellängen eine gleiche Schwankung um einen bestimmten angesetzten Mittelwert aufwiesen.
7. Die in der auf Seite 38 beschriebenen Weise in das Nahrsubstrat übergeführten Maispflanzen konnten infolge Platzbeschränkung des hiesigen Institutes nur in einem Raum gezogen

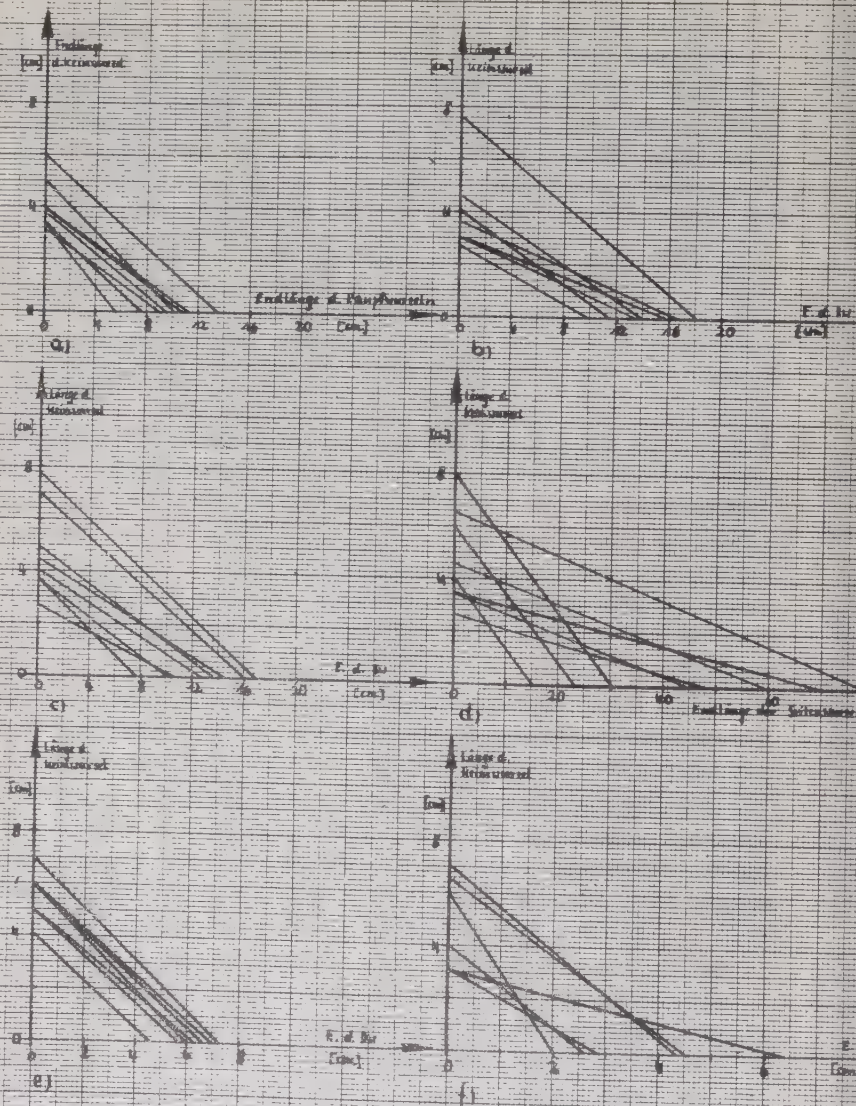


Abb. 15 Beziehung zwischen Länge der Seitenwurzel und der nach Versuchsbeendigung ermittelten Hauptwurzel- bzw. Seitenwurzellänge, w. d. Kornsäpflanzungen a, f Pflanzen bei Konz. 15 cm

werden, der zwar einigermaßen hell, aber je nach Außentemperatur Schwankungen von einigen Graden unterworfen war. Deshalb war die Möglichkeit nicht gegeben, die Versuche nach einer festgelegten Anzahl von Tagen abubrechen. Die Wachstumsdauer wurde je nach Witterung auf 9-12 Tage begrenzt. Als Norm diente die Länge der Kontrollpflanzen.

Anzahl der Versuche. Je mehr Versuchsmaterial vorliegt, desto genauere Resultate können erwartet werden (s.S.40). Für jede Versuchsserie wurden zwischen 150-500 Maispflanzen verwendet.

Die zu erwartenden Fehler sind auf Grund dieser Ausführungen zum einen in der sicherlich unterschiedlichen Stoffwechseltätigkeit des Pilzes selbst, zum andern in der verschiedenen Belichtungsdauer, Sonneneinstrahlung und Wärme zu suchen (Wachstum in verschiedenen Jahreszeiten). Auch die Länge der Keimwurzeln dürfte trotz sorgfältigster Auswahl des Keimmaterials einen gewissen Einfluss haben. Zuletzt darf nicht der Fehler außer acht gelassen werden, den die normale Wachstumsungenauigkeit mit sich bringt.

B. Versuchsanordnung für Aspergillus niger.

30-40 100ccm Erlenmeyerkolben mit je 25ccm Czapek-Dox Nährlösung wurden mit Aspergillus niger beimpft. Infolge der schnellen Wachstumszeit des Pilzes konnte das Filtrat bereits nach 10 Tagen gewonnen, steril filtriert und in den Konzentrationen 0, 2, 5, 10, 15 ccm der Knopschen Nährlösung zugegeben werden, in der Art, daß Knopsche Nährlösung + Pilzstoffwechselprodukt stets 130 ccm ergaben, was dem Fassungsvermögen eines 100 ccm Erlenmeyer-Weithalskolbens entspricht. Legt man als Verdünnungsverhältnis: Knopsche Nährlösung (ccm)/Pilzfiltrat (ccm) = 130ccm - Pilzfiltrat (ccm)/Pilzfiltrat fest, so erhält man:

Zug. Filtrat	0	2	5	10	15	(ccm)
Verdünn. Verh.	1:∞	1:64	1:25	1:12	1:7,7	

Der p_H -Wert von 6,0 der Czapek-Dox Nährlösung sank infolge der lebhaften Stoffwechseltätigkeit des Pilzes bis auf einen p_H -Wert von 2,0 ab. Das so erhaltene Produkt ist ein Puffer, da es trotz starker Verdünnung seinen p_H -Wert behauptet, wie aus Tabelle 3, Seite 39, ersichtlich ist.

Die Versuchsbearbeitung richtete sich bei allen hier verwendeten Pilzen nach deren Anfangsbuchstaben. Die Aspergillus-Versuche erhielten demnach die Bezeichnung A. Da hier, wie bereits erwähnt, Versuche mit verschiedenen p_H -Werten des Stoffwechselproduktes durchgeführt wurden, mußte eine zusätzliche Zahl eingeführt werden, durch welche der p_H -Wert zum Ausdruck kommt: Also A2, A3, A5. Die nun in der Besprechung folgende Versuchsserie erhält demnach die Bezeichnung A2. Insgesamt kamen bei Versuchsserie A2 zehn Versuche zur Durchführung. Jeder Versuch bestand aus 50 Pflanzen, wobei für jede Konzentration 10 Pflanzen angesetzt wurden.

C. Quantitative Ergebnisse.

1. Normierung und Streumaße.

Aus Abb. 16a ist der Einfluss der verschiedenen Konzentrationen auf die Wachstumslänge ersichtlich. Um die Übersichtlichkeit des Kurvenverlaufes zu erhöhen, werden alle Längen auf die entsprechende Durchschnittslänge L_0 der Kontrollpflanzen bezogen. Ebenso verfährt man mit den Gewichten und den übrigen Werten, d.h. alle Längen L , Gewichte G , Anzahl n usw. werden durch die Längen L_0 , Gewichte G_0 , Anzahl n_0 der Kontrollpflanzen dividiert. Als Ordinate erscheinen dann die Werte $\frac{L}{L_0}$, $\frac{G}{G_0}$, $\frac{n}{n_0}$ usw., wobei der Index 0 den Wert der Kontrollpflanze anzeigt. Damit wird der Wert der Kontrollpflanze stets 1. Diese Normierung bietet neben der Möglichkeit, den Verlauf mehrerer Kurven zu vergleichen, auch eine rasche Übersicht über den prozentualen Abfall der einzelnen Kurven (Abb. 16b). So tritt beispielsweise der übereinstimmende Verlauf der Gesamtlänge aller Seitenwurzeln L_{sw} und der Anzahl der Seitenwurzeln n_{sw} erst durch die Normierung auffällig zutage. Die Genauigkeit der Kurvenführung hängt von deren Streumaßen ab, wie sie nach der Formel aus Seite 40 errechenbar sind. Sie liegen hier infolge des zahlreichen Untersuchungsmaterials (10 Versuche, 500 Pflanzen) nie höher als $\pm 12\%$, im Durchschnitt bei $\pm 7\%$. Betrachtet man jedoch die Einzelversuche (A2/1 bis A2/10, Abb. 17), so fällt vielfach die eckige Kurvenführung auf. Bei den Einzelversuchen liegen die Streuwerte rund dreimal so hoch. Eine größere Anzahl von Versuchen glättet sichtlich den eckigen

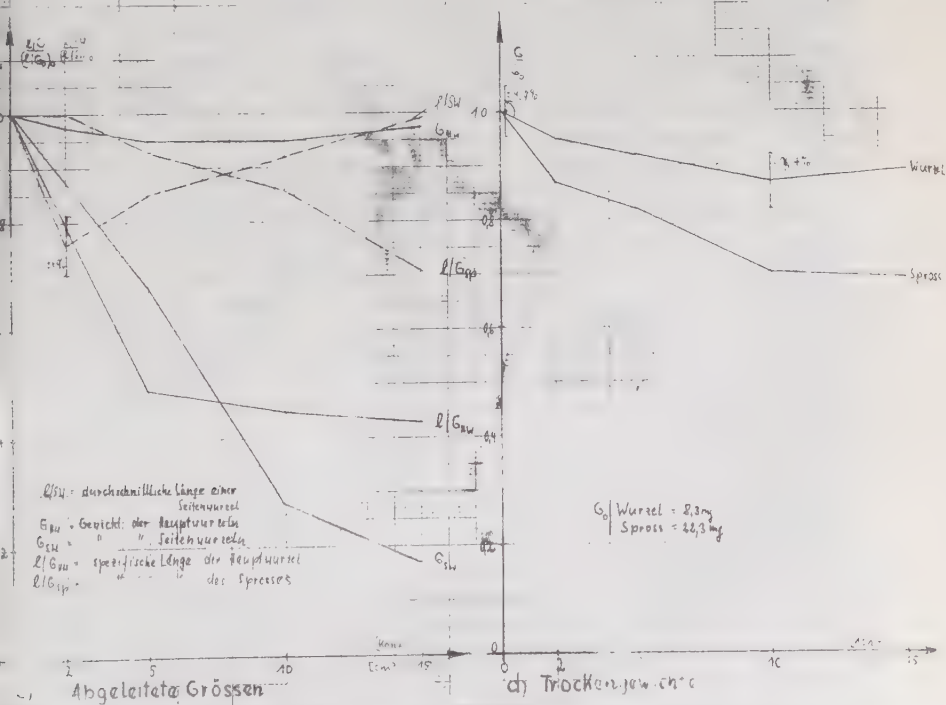
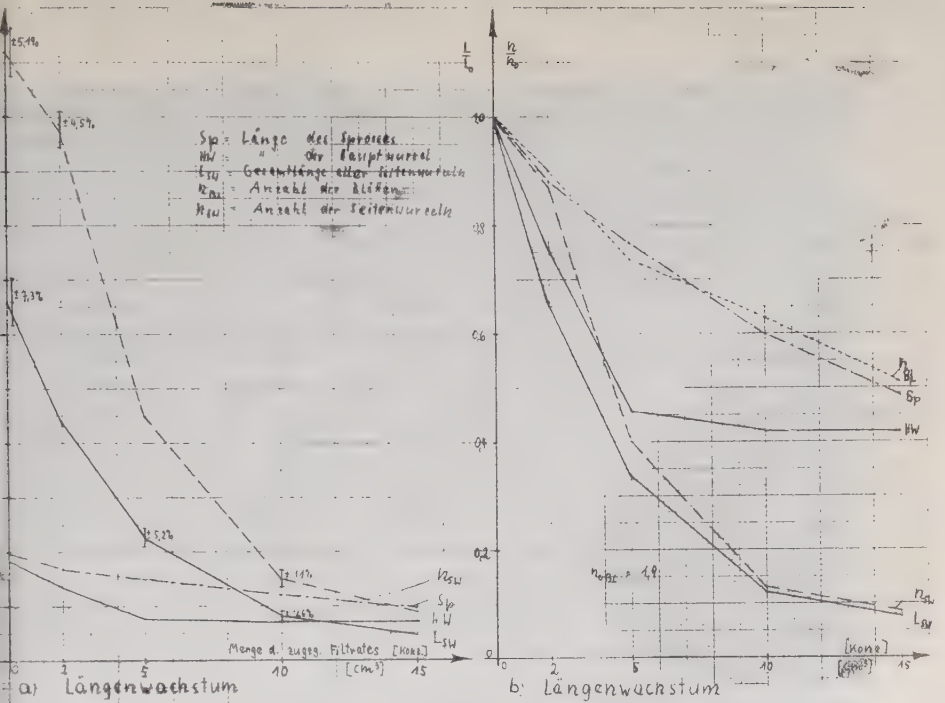


Abb. 56 Einfluss des in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrates von *Aspergillus niger* auf das Wachstum von Mais

a - nicht normierte Kurven

b - d normierte Kurven

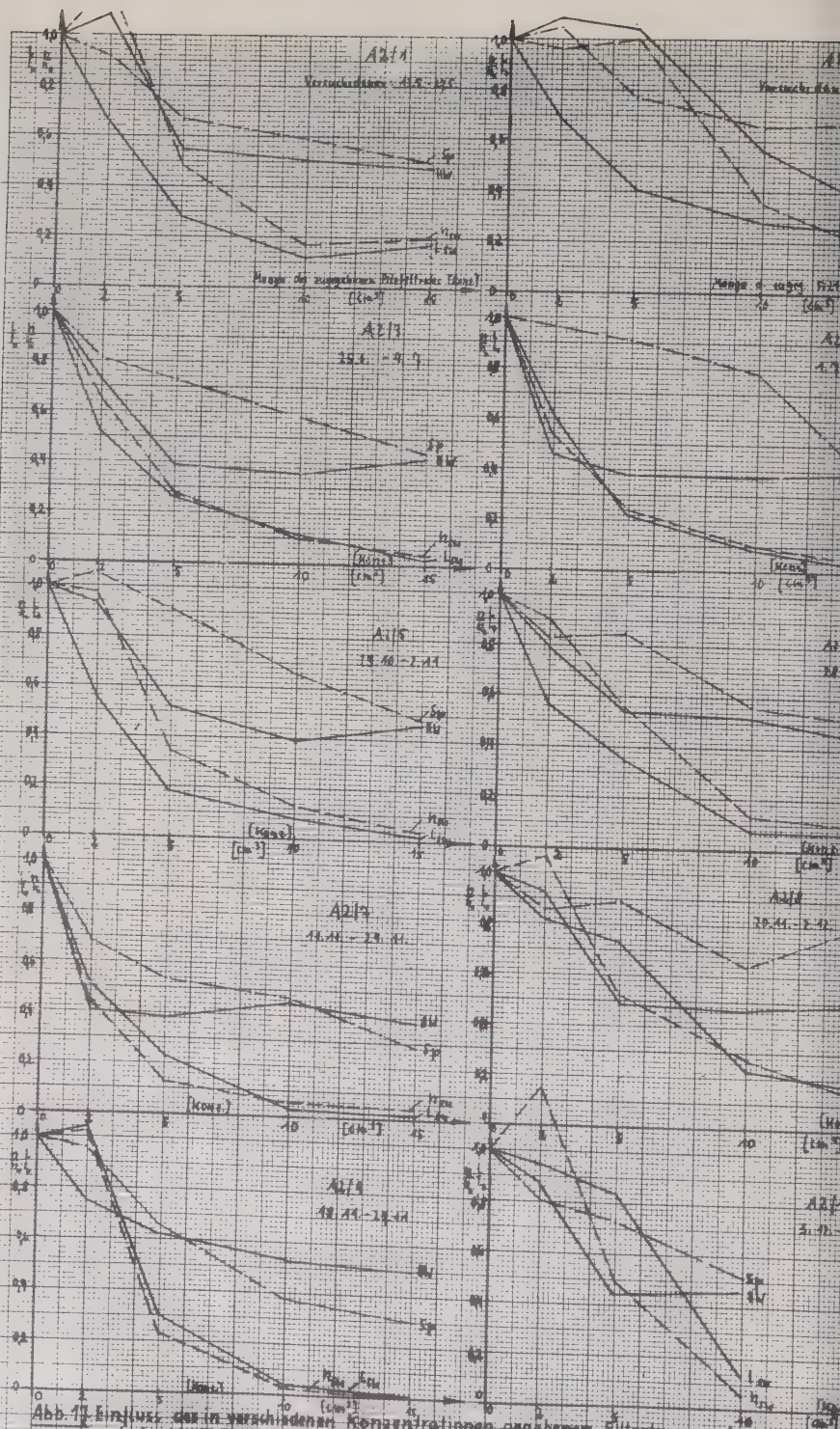


Abb. 17 Einfluss der in verschiedenen Konzentrationen zugegebenen Pfl.

Kurvenverlauf und erhöht die Versuchsgenauigkeit. Die Streuwerte sind hier, wie auch in späteren Darstellungen nur dann eingezeichnet, wenn sie die Übersicht der Kurvenbilder nicht stören.

2. Abgeleitete Größen.

Zusätzlich zu den durch Messung ermittelten Größen wurden noch folgende Größen eingeführt:

a) Länge der einzelnen Seitenwurzel (l/SW). Sie ist der Quotient Gesamtlänge aller Seitenwurzeln/Anzahl der Seitenwurzeln = L_{sw}/n_{sw} . Dieses Maß gibt lediglich die durchschnittliche Länge der einzelnen Seitenwurzel an.

b) Spezifische Länge (l/G). Es wurde noch die von Kandler³⁴⁾ geprägte spezifische Länge eingeführt, das ist die Länge der Wurzeln bzw. des Sprosses pro Trockengewicht. Die Trockengewichtsbestimmung erfolgte durch gemeinsame Wägung aller Pflanzen einer Konzentration und zwar von Sproß- und Wurzelsystem getrennt. Anschließend wurde durch die Anzahl der gewogenen Pflanzen dividiert. Die spezifische Länge des Sproßsystems ließ sich eindeutig ermitteln. Schwierigkeiten ergaben sich jedoch bei der Feststellung der spezifischen Länge des Wurzelsystems, da sich diese sowohl auf die Hauptwurzel als auch auf die Seitenwurzeln beziehen kann. Da Kandler mit abgeschnittenen, in vitro kultivierten Maiswurzelspitzen arbeitete, deren Nebenwurzeln kaum zur Ausbildung gelangten, lag hier in der Errechnung keine Problematik. In unserem Fall sind jedoch die Seitenwurzeln meist gut entwickelt. Da sich aber das Verhältnis Seitenwurzellänge zu Hauptwurzellänge bei den einzelnen Konzentrationen dauernd ändert, wäre es nicht sinnvoll, die spezifische Länge auf das ganze Wurzelsystem zu beziehen, sondern entweder nur auf die Hauptwurzeln oder nur auf die Seitenwurzeln.

Die spezifische Länge der Hauptwurzel = $\frac{L_{HW}}{G_{HW}}$

Die spezifische Länge der Seitenwurzeln = $\frac{L_{sw}}{G_{sw}}$

Da die Wägung allein der hauchfeinen, getrockneten Seitenwurzeln zu größeren Meßfehlern Anlaß gegeben hätte, sowie eine saubere Trennung der Seitenwurzeln von den Hauptwurzeln nicht exakt durchführbar gewesen wäre, wurden HW und SW gemeinsam gewogen.

Also $G_{HW} + G_{sw} = G_{\text{gemessen}}$, wobei G_{HW} = Gewicht der HW, G_{sw} = Gewicht der SW, G_{gemessen} = Gesamtgewicht von HW und SW ist.

G_{HW} wird vorgezogen: $(1) \quad G_{HW} \left(1 + \frac{G_{SW}}{G_{HW}} \right) = G_{gem}$

Damit wird also das Gewicht der Hauptwurzel

$$(2) \quad G_{HW} = \frac{G_{gem}}{1 + \frac{G_{SW}}{G_{HW}}}$$

Ist das Verhältnis G_{SW}/G_{HW} bekannt, so kann man das Gewicht der HW aus dem gemessenen Gewicht leicht errechnen.

Das Gewicht der HW stimmt mit dem gemessenen Wert umso besser überein, je kleiner der Wert G_{SW}/G_{HW} ist, weil dann G_{gem} nur durch 1 geteilt wird. Da Haupt- und Seitenwurzeln aus dem gleichen Material bestehen, sind auch deren spezifische Gewichte gleich. Aus diesem Grunde verhalten sich die Gewichte von G_{SW}/G_{HW} wie die Volumina V_{SW}/V_{HW} . Das Volumen einer Wurzel errechnet sich aus seiner Länge mal dem Querschnitt. Da die Wurzeln konisch verlaufen, wird mit dem mittleren Querschnitt gerechnet. Der Querschnitt errechnet sich aus πr^2 . r ist der mittlere Radius der Wurzel. Es ergibt sich jetzt

$$(3) \quad \frac{G_{SW}}{G_{HW}} = \frac{V_{SW}}{V_{HW}} = \frac{\ell_{SW} \cdot \pi \lambda_{SW}^2}{\ell_{HW} \cdot \pi \lambda_{HW}^2} = \frac{\ell_{SW}}{\ell_{HW}} \cdot \left(\frac{\lambda_{SW}}{\lambda_{HW}} \right)^2$$

Mit anderen Worten: Das Gewicht der SW verhält sich zu dem Gewicht der HW wie die Länge der Seitenwurzeln zur Länge der Hauptwurzeln, multipliziert mit dem Quadrat des Durchmesser-Verhältnisses von SW zu HW.

Die Messung ergab bei den Kontrollpflanzen einen mittleren Hauptwurzeldurchmesser von $27,5 \pm 0,73$ Längeneinheiten und einen mittleren Seitenwurzeldurchmesser von $5,0 \pm 0,1$ Längeneinheiten. Der Durchmesser von Haupt- und Seitenwurzeln wurde aus 60 Messungen ermittelt. Dies führt zu einem Durchmesser-Verhältnis $r_1 : r_2$ von $5,5 \pm 0,25$, welches auch bei den höheren Konzentrationen erhalten bleibt. Wenn G_{SW}/G_{HW} kleiner als $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{20}$ ist, kann man unbedenklich $G_{HW} = G_{gem}$ setzen. Anderfalls muß G_{HW} nach Formel (3) ausgerechnet werden. Zur Errechnung werden die absoluten Längen benötigt. Tabelle 5 bringt eine zusammenfassende Darstellung über G_{HW} , G_{SW} , G_{SW}/G_{HW} , sowie über die spezifische Länge der Wurzel.

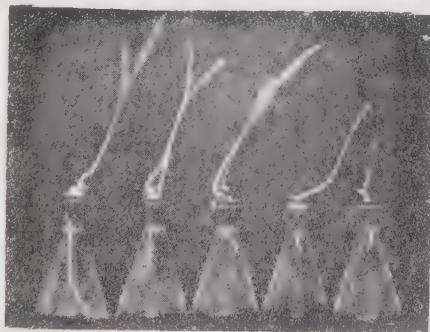
Konz.	gemessen			errechnet				
	L_{Hw} (cm)	L_{Sw} (cm)	G_{gem} (mg)	G_{Hw} (mg)	G_{Sw} (mg)	$\frac{G_{Sw}}{G_{Hw}}$	$1/G_{Hw}$ (cm/mg)	$\frac{1/G_{Hw}}{(1/G_{Hw})_0}$
0	12,5	43,9	8,3	7,4	0,89	0,12	1,69	1,0
2	9,5	29,0	7,9	7,2	0,72	0,1	1,32	0,79
5	5,8	15,1	7,6	7,0	0,6	0,086	0,83	0,49
10	5,3	5,3	7,2	7,0	0,23	0,033	0,76	0,45
15	5,3	3,3	7,4	7,2	0,15	0,021	0,73	0,43

Tabelle 5. Errechnung der spezifischen Länge der Hauptwurzel, sowie der Gewichte von Haupt- und Seitenwurzeln.

Das Verhältnis Frisch- zu Trockengewicht (G_{Fr}/G_{Tr}) konnte in den Versuchen mit *Aspergillus niger* infolge Fehlens der Frischgewichte noch nicht eingeführt werden, sondern wurde erst bei späteren Versuchen berücksichtigt. Diese Größe kann Rückschluß über die in der Pflanze herrschenden osmotischen Verhältnisse geben, was auf Seite 58 noch zur Besprechung kommen wird.

Auswertung

Stoffwechselprodukte von *Aspergillus niger* üben auf das Wachstum von Mais eine starke Hemmung aus, die mit steigender Konzentration zunimmt (Abb. 18). Sproß und Hauptwurzel weisen generell eine geringere Hemmung auf als die Seitenwurzeln (Abb. 17b). Im allgemeinen wird der Sproß am stärksten geschädigt. Die Kontrollpflanzen produzieren im Durchschnitt zwei bis drei Blätter, die im Durchschnitt 15 cm lang und 5 cm breit sind. In den Versuchspflanzen sind die Blätter meist kürzer und breiter. Drei Blätter werden seltener gebildet.



Konz. 10 entwickelt sich zumeist nur noch ein Sproß, welches im Durchschnitt

Konz. 0 2 5 10 15
Abb. 18. Wachstumshemmung durch Filtrate von *Aspergillus niger*.

schnitt die Hälfte der Blattgröße einer normal behandelten Pflanze aufweist. Pflanzen der Konz. 15 zeigen ein stark verkürztes Epikotyl. Das Blatt selbst ist, wenn überhaupt schon entfaltet, vielfach noch eingerollt. Nicht selten zeichnen sich von den Blatträndern her eingetrocknete Stellen ab. Diese Erscheinung ist auch bei den geringeren Konzentrationen gelegentlich festzustellen. Vereinzelt konnten schon nach mehreren Tagen Welkeerscheinungen beobachtet werden. Die Länge der Blattspreiten wurde bei allen Versuchen gemessen, jedoch wegen übersichtlicherer Darstellung der stark zusammengedrängten Kurven nicht eingezeichnet. Die Hauptwurzel erreicht bei der höchsten Konzentration nur noch eine Länge von wenigen Zentimetern, wird an der Wurzelspitze zumeist gallertig-weich, glasartig durchsichtig und verfärbt sich ins Bräunliche. In seltenen Fällen zeigt die ganze Wurzel diese Erscheinung. Auch eine Verdickung der Wurzel ist deutlich sichtbar. Die braunliche Verfärbung, sowie eine Verdickung der Wurzel konnte auch Kandler³⁵ bei der direkten Bakterienbeimpfung auf isolierte Wurzeln feststellen. Die ermittelten Durchschnittswerte der Länge der Keimwurzeln bei Versuchsbeginn sowie der Hauptwurzellänge nach Beendigung der Versuche gestatteten die Errechnung ihrer Zuwachswerte. Tab. 6 gibt Aufschluß darüber, daß die Zuwachswerte mit steigender Konzentration erheblich absinken und nach zwölftägiger Kulturdauer bei den Konz. 5, 10 und 15 nur noch äußerst geringfügig sind. Man kann also ohne weiteres die Behauptung aufstellen, daß bei Konz. 10 und 15 ein Wachstum kaum mehr stattfindet. Auf Grund der hier gebrachten Feststellungen erübrigte es sich, noch höhere Konzentrationen als 1:8 zu den Versuchen heranzuziehen.

Das für die Hauptwurzel Gesagte trifft für die Seitenwurzeln in noch viel stärkerem Maße zu. Die Zuwachskurve der SW ist identisch mit der Kurve

Konz.	Ausgangslänge cm	Endlänge cm	Zuwachs cm
0	4,8	12,7	7,9
2	4,5	9,2	4,7
5	4,6	5,7	1,2
10	4,8	5,5	0,7
15	4,9	5,4	0,5

Tab. 6. Einfluß des in verschiedenen Konzentrationen zugegebenen Filtrates von *Aspergillus niger* auf die Hauptwurzel von *Zea mays*.

der Gesamtlänge der Seitenwurzeln L_{sw} aus Abb. 16 a und 16 b, weil dort die Anfangslänge der SW bei den Keimwurzeln = 0. Wenn man auch rein augenscheinlich bei den Versuchen leicht der Täuschung oblag, daß sich die Wachstumshemmung der Seitenwurzeln auf deren verminderte Länge bezog, so lehrt die quantitative Auswertung, daß bei dem sehr ähnlichen Verlauf von L_{sw} und n_{sw} (Abb. 16b) der Quotient $1/SW$ demgegenüber nur geringfügig abnimmt. Nur bei Konz. 2 ist ein stärkerer Längenabfall bemerkbar (Abb. 16c). Die Länge der einzelnen Seitenwurzel

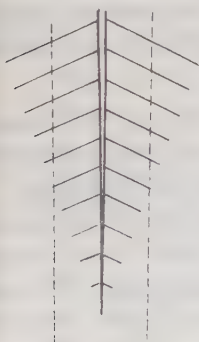


Abb. 19.

bezieht sich selbstverständlich auf das Mittel der einzelnen Seitenwurzellänge, da letztere ja zur Wurzelspitze hin abnimmt (Abb. 19). Dagegen äußert sich die Hemmung zum großen Teil in der bedeutend geringer werdenden Seitenwurzelanzahl. Bei der höchsten Konzentration bleiben im Durchschnitt pro Pflanze nur noch 6 gegenüber 75 SW bei den Kontrollpflanzen. Konzentrationssteigerung bewirkt auch bei den SW vielfach bräunliche Verfärbung. Sie sind dann zumeist kurz, gedrunken, starr, vielfach wellig und verdickt; nicht selten häufen sie sich in der Mitte der HW auf kleinstem Raum.

Vielfach deuten kleine, bräunliche, etwas erhabene Punkte auf eine im Wachstum steckengebliebene SW hin. Auch die Wurzelhaare werden in Mitleidenschaft gezogen. Bei Konz. 15 erfolgt überhaupt keine Ausbildung mehr. Wachstumsanomalien (gabelförmige Verzweigungen), wie Stolp³²⁾ sie bei der Einwirkung von Bakterienfiltraten beobachtete, konnten nicht festgestellt werden. Stolp wies jedoch nach, daß diese weniger auf ein spezifisch wirkendes Stoffwechselprodukt des Bakteriums, als auf die in der unbewachsenen Nährlösung vorhandenen Substanzen zurückzuführen waren. Wachstumshemmung mit steigender Konzentration konnten sowohl Kandler³⁵⁾ als auch Stolp bei der Einwirkung von Bakterienfiltraten auf kultivierte Maiswurzeln feststellen. Das Filtrat wirkt sich nach Kandler in geringsten Konzentrationen fördernd aus und soll seiner Meinung nach auf Heteroauxin zurückzuführen sein. Im Gegensatz dazu stellte Stolp fest, daß nicht Heteroauxin für die Hemmung bzw. Förderung verantwortlich gemacht werden kann, sondern irgendwelche Stoffwech-

selprodukte unbekannter Art. Er konnte auch bei starken Verdünnungen (1:10 000) keine fördernde Wirkung erzielen.

Die stark abfallenden Kurven der Gesamtlänge der Seitenwurzeln L_{sw} und n_{sw} erinnern an umgekehrte Wachstumskurven. Da letztere einem Exponentialgesetz³⁶⁾³⁷⁾ gehorchen*, besteht die Vermutung, daß auch die hier zur Darstellung gebrachten Kurven Exponentialfunktionen sind. Man kann dies nachweisen, indem man die Kurven auf halblogarithmisches Papier zeichnet. Alle Exponentialfunktionen erscheinen dort als gerade Linien. Tatsächlich haben die Kurven der L_{sw} , n_{sw} und der Sproßlänge dort einen fast geradlinigen Verlauf.

Bei den Versuchen mit *Aspergillus niger* wurden die Frischgewichte noch nicht bestimmt, sodaß hier nur die Trockengewichte betrachtet werden können. Das Trockengewicht des Sprosses nimmt ähnlich wie das Längenwachstum mit steigender Konzentration ab, wenn auch nicht in demselben Maße (Abb. 16d). Dagege verändert sich das Trockengewicht des Wurzelsystems nur äußerst geringfügig. Vergrößerung der Zellen oder Verdickung der Zellmembran konnte bei mikroskopischer Betrachtung nicht festgestellt werden. Das als fast konstant zu bezeichnende Trockengewicht bei starker Einschränkung des gesamten Wurzelwachstums, verbunden mit einer deutlich sichtbaren Wurzelverdickung führt einerseits zu der Vermutung, daß die Wurzelzellen infolge des auf sie toxisch wirkenden Pilzstoffwechselproduktes zur Teilung angeregt werden. So findet vergleichsweise vielfach bei mit Mykorrhizapilzen vergesellschafteten Bäumen Zellvermehrung statt, da die vom Pilz ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte toxisch auf das Wirtsgewebe einwirken. Auch β -Indolylessigsäure kann z.B. Zellteilungen hervorrufen. Neben Kandler führt auch Bukatsch und Heitzer³⁸⁾, die die Einwirkung von Bakterienfiltraten auf isolierte Wurzeln untersuchten, die Wurzelverdickung auf Heteroauxinwirkung zurück. Andererseits könnte auch die Pflanze zu vermehrter Stoffwechsellätigkeit angeregt werden, sodaß deren Endprodukte teilweise in den Wurzelzellen an-

Wachstumsgesetz: $\frac{L}{L_0} = e^{kt}$

wobei $e = 2,7$ Grundzahl
 $k =$ Intensitätsfaktor
 $t =$ Zeit

$c =$ zupipettiertes Pilzfiltrat.

Hemmungsgesetz: $\frac{L}{L_0}$ bzw. $\frac{n}{n_0} = e^{-ct}$

Index gilt für die Kontrollpflanzen bzw. Anfangslängen.

gehäuft und gespeichert würden. Die stärkere Reduzierung des Wurzelsystems, die zu einer Verkleinerung der gesamten Wurzeloberfläche bei gleichbleibendem Volumen führt, kann auch als eine Art Selbstschutz der Pflanze aufgefasst werden; denn je geringer die Zahl der wasser- und nährstoffaufnehmenden Organe ist, umso geringer ist die Menge des aufzunehmenden Stoffes.

D. Versuche mit Filtraten geringerer Wasserstoffionen-konzentration.

Die Frage wirft sich auf, ob zwischen dem p_H -Wert und der Anhäufung an Stoffwechselprodukten ein direkter Zusammenhang besteht. Zunächst ergibt sich eine Abhängigkeit des p_H -Wertes von der Zeit, da dieser zwangsläufig umso mehr in den sauren Bereich verschoben wird, je länger der Pilz auf der Nährlösung wächst (siehe Seite 42). Ein Maß für die Anreicherung der Stoffwechselprodukte ist hier also nur durch die Änderung des p_H -Wertes gegeben. Die folgenden Versuche sollen nun ermitteln, ob und in welchem Maße eine Wachstumshemmung bei geringeren p_H -Werten des Stoffwechselproduktes zu erzielen ist. Damit ist dann gleichzeitig ein Urteil über die mit der Zeit (bzw. mit dem p_H -Wert) sich vergrößernde Stoffwechselmenge möglich.

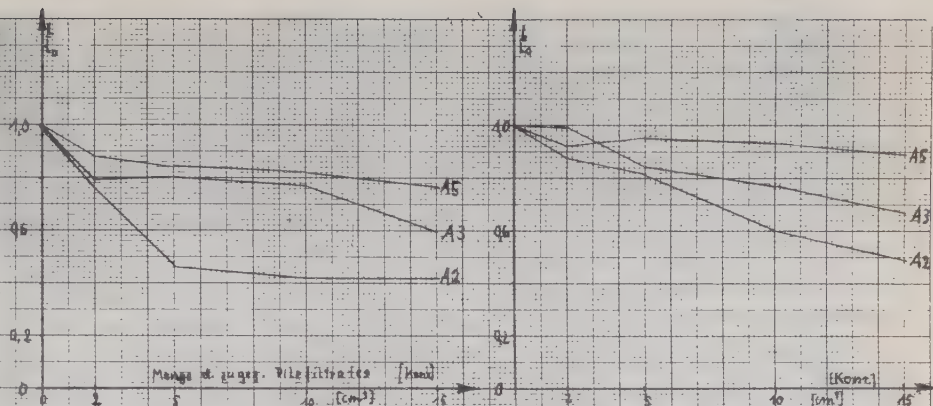
Die Versuchsanordnung wurde wie bei der A2-Versuchsserie durchgeführt. Es kamen Pilzfiltrate mit den p_H -Werten 3 und 5 zur Verwendung, die durch unterschiedlich lange Kulturdauer gewonnen werden konnten (Tab. 4, S. 42). Jede Versuchsserie bestand aus drei Versuchen mit je 50 Pflanzen.

Die einzelnen Größen der Versuchsserien A2, A3 und A5 sind miteinander durch Aufzeichnen beispielsweise der Sproßlängen vergleichbar. Dabei erhält man bei verschiedenen p_H -Werten unterschiedliche Abhängigkeiten zwischen Sproßlänge und Konzentration (Abb. 20, a-d). Wie vermutet, wirkt sich die Hemmung bei den A3 und A5 Versuchsserien gegenüber der A2 Versuchsserie bedeutend geringer aus. Ähnlich den A2 Versuchen werden auch hier die Seitenwurzeln wesentlich stärker gehemmt als Sproß und Hauptwurzeln. Die Kurven der Versuchsserien A3 und A5 sind im allgemeinen bedeutend eckiger als diejenigen von A2, wobei

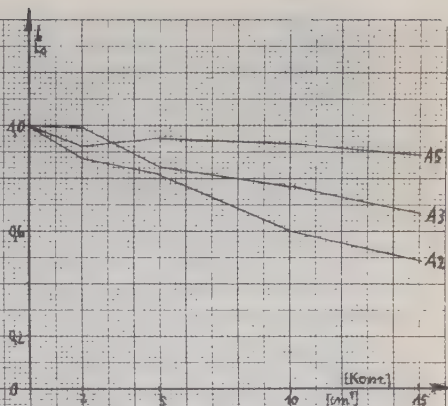
die Ursache in der geringeren Versuchsanzahl und in dem schwächeren Abfall zu suchen ist. Zwar besteht die Möglichkeit, daß innerhalb des Kurvenverlaufs tatsächlich wieder ein Anstieg zu verzeichnen ist, doch ist dies schwerlich einzusehen, da

1. allgemein ein Abfall zu verzeichnen ist,
2. der Anstieg nicht einer Förderung des Arndtschen Gesetzes (demzufolge "stoffwechselfremde" Stoffe in geringen Mengen fördernd wirken sollen⁹⁾) gleichkommt, weil die Höhe des Kontrollwertes nie überschritten wird und aller Voraussicht nach die verwendeten Konzentrationen zu hoch sind, um eine Förderung zu erzielen,
3. der Wiederanstieg innerhalb der Streuwertgrenzen liegt. Infolge der geringeren Versuchsanzahl sind bei den A3 und A5 Versuchen auch die Streuwerte bedeutend höher als bei den A2 Versuchen. Sie liegen im Durchschnitt bei 13%, variieren aber zwischen 7-19%. Vergleicht man die Kurven, so ergibt sich zwar bei Sproß und Hauptwurzeln ungefähr das erwartete Bild - stärker fallende Kurven mit sinkendem p_H -Wert (Abb. 20 a,b) - nicht aber bei L_{sw} und n_{sw} (Abb. 20 c,d). Hier hat beispielsweise die Kurve A3 mit dem tieferen p_H -wert einen geringeren Abfall als die Kurve A5.

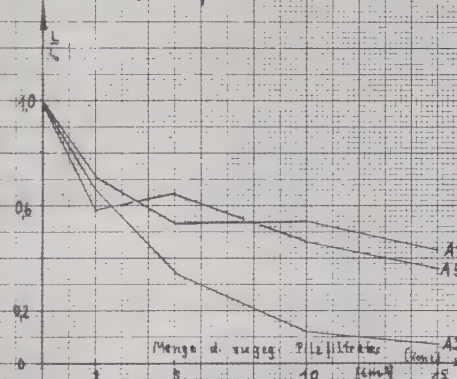
Nun wird die Betrachtung der Streuwerte wirksam. Durch Auftragen der Streuwerte der ermittelten Kurven wird ein bestimmter Streuwertbereich abgesteckt (Abb. 21 a-d), innerhalb dessen Grenzen eine andere Kurve gelegt werden darf, die den theoretischen Anforderungen mehr gerecht wird als die ursprüngliche. Die neuen Kurven sind nicht zwingend, jedoch innerhalb der Experimente durchaus möglich und erlaubt und führen nun auch bei n_{sw} und L_{sw} insofern zu befriedigenden Ergebnissen, als das Kurvenbild bei beiden Darstellungen den Erwartungen einigermaßen gerecht wird (Abb. 20 e,f), indem die Kurven der Versuchsserie A5 nun den geringsten Abfall zeigen. Die Kurven der Versuchsserien A3 und A5 liegen relativ eng zusammen und fallen gegenüber denjenigen von A2 nur wenig ab. Dies führt zu der Vermutung, daß sich bei noch lückenhaftem Wachstum des Pilzes die wachstumshemmenden Stoffe nicht entsprechend der



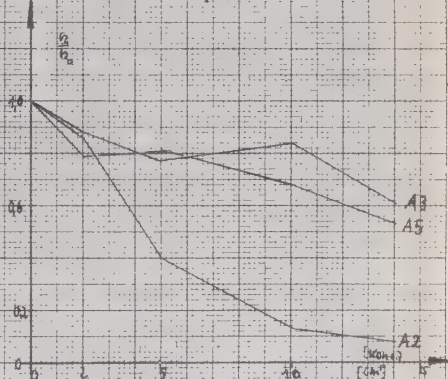
a) Hauptwurzel



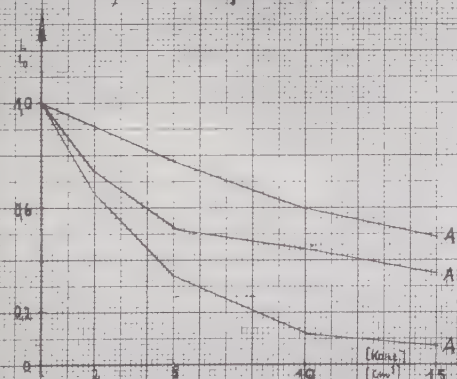
b) Spross



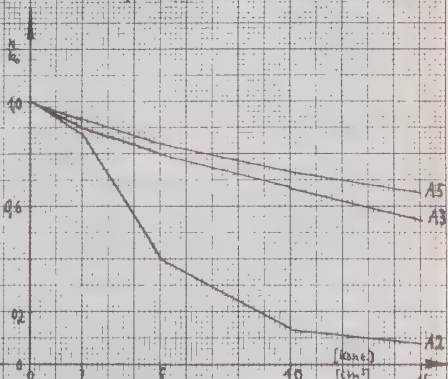
c) Gesamtlänge aller Seitenwurzeln



d) Anzahl der Seitenwurzeln



e) Gesamtlänge aller Seitenwurzeln



f) Anzahl der Seitenwurzeln

Abb. 2.0. Vergleichende Darstellung der Beeinflussung des Längenwachstums von Mais durch Filtrate verschiedener pH-Werte von *Aspergillus niger*.

a-d unkorrigierte Kurven

e-f korrigierte Kurven

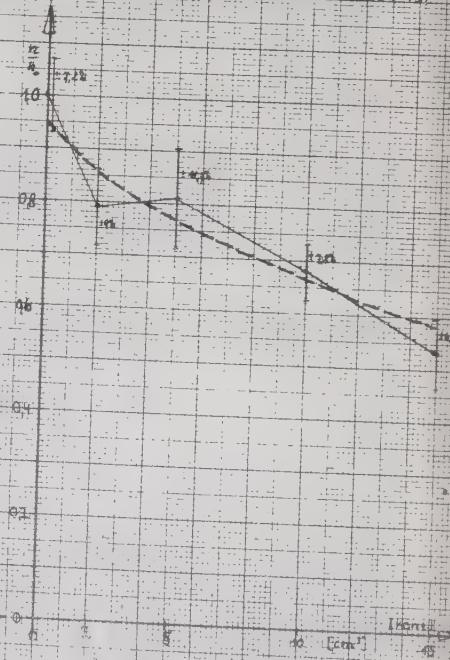
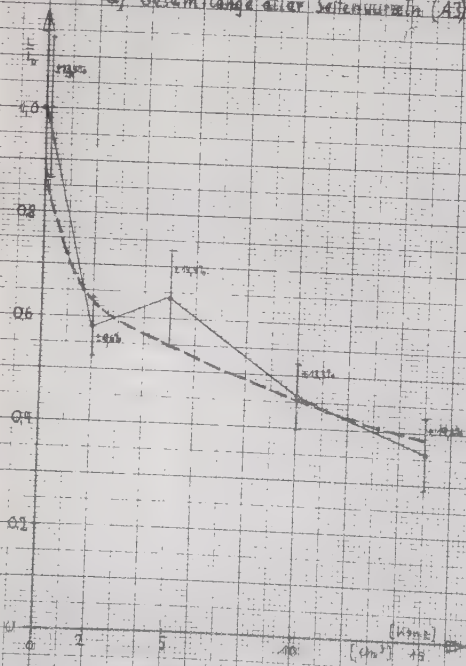
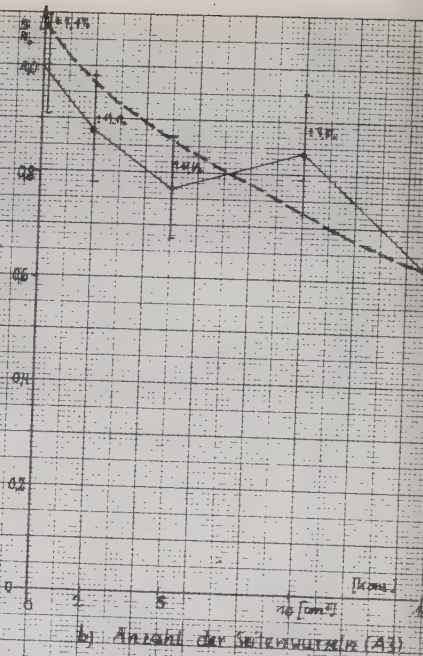
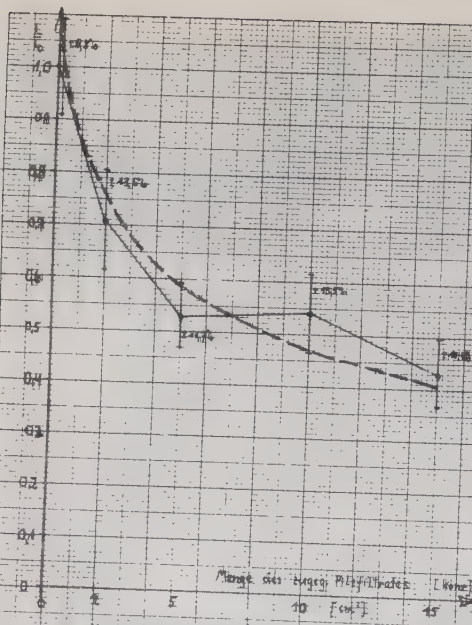


Abb. 2.1. Die innerhalb ihrer Streuwertbereiche korrigierten Kurven.

Größe des p_H -Wertes anreichern. Außer den hier beschriebenen sind keine in dieser Arbeit angeführten Kurven durch Streuwertbetrachtungen korrigiert.

Um die Hemmstoffwirkung von A3 und A5 abzuschätzen, darf man nicht den Wachstumsabfall als solchen betrachten, sondern muß in der Abb. 20 ablesen, eine wieviel mal stärkere Konzentration von A3 bzw. A5 gegenüber der Konzentration A2 bei gleicher Wachstumslänge gebraucht wird. So erreicht man beispielsweise mit 2 ccm A2-Filtrat eine Wachstumshemmung der Hauptwurzeln von $\frac{L}{L_0} = 0,77$ (Abb. 20 a). Dagegen benötigt man für dieselbe Wachstumshemmung 10 ccm A3-Filtrat. Folglich muß man von A3 fünfmal so viel Pilzfiltrat verwenden wie von A2. Es werden in Abb. 20 a-d jetzt alle Konzentrationsverhältnisse gegenüber A2 ausgerechnet (für A3 und A5 natürlich getrennt). Dabei ergibt sich dann als Durchschnittswert für A3 eine rund 3,7 mal geringere Wirkung als für A2 und für A5 eine rund 4,3 fache Wirkungsverminderung gegenüber A2.

Die Frage steht noch offen, ob die zunehmende Hemmung mit sinkendem p_H -Wert auf die Wasserstoffionen-konzentration selbst zurückzuführen oder der zwangsläufig sich damit erhöhenden Stoffwechseltätigkeit des Pilzes, die selbstverständlich eine Anreicherung der Hemmstoffe bewirkt, zuzuschreiben ist. Am wahrscheinlichsten ist die Annahme, daß beide Faktoren gemeinsam die wachstumshemmende Wirkung hervorrufen.

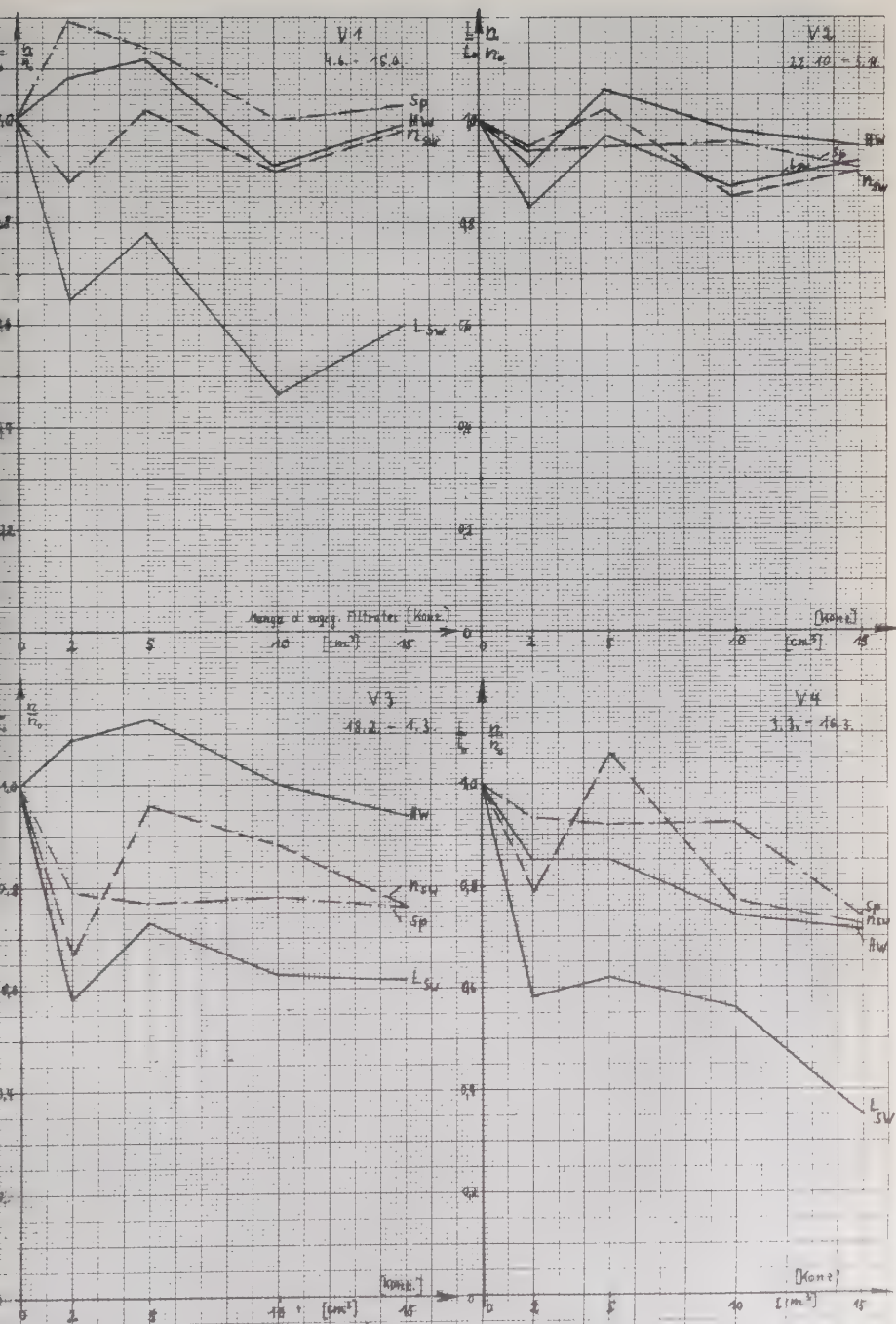
Wie aus Tab. 1 und 2 (Seite 31) ersichtlich, ist von den hier isolierten Pilzen neben *Aspergillus niger* nur *Rhizopus nigricans* befähigt, bei gutem Wachstum eine Sauerung des Mediums hervorzurufen. Da diese Behauptung für *Rhizopus nigricans* nur auf Raulin-Nährlosung ihre Gültigkeit findet, diese ihrerseits aber infolge der hohen H-Ionenkonzentration eine ungünstige Wirkung auf das Wachstum von Mais ausübt, mußte auf diese Versuche verzichtet werden. Die nachfolgenden Versuche wurden deshalb mit Pilzen durchgeführt, deren Stoffwechselprodukte alkalisch reagieren.

II. Versuche mit Verticillium glaucum.

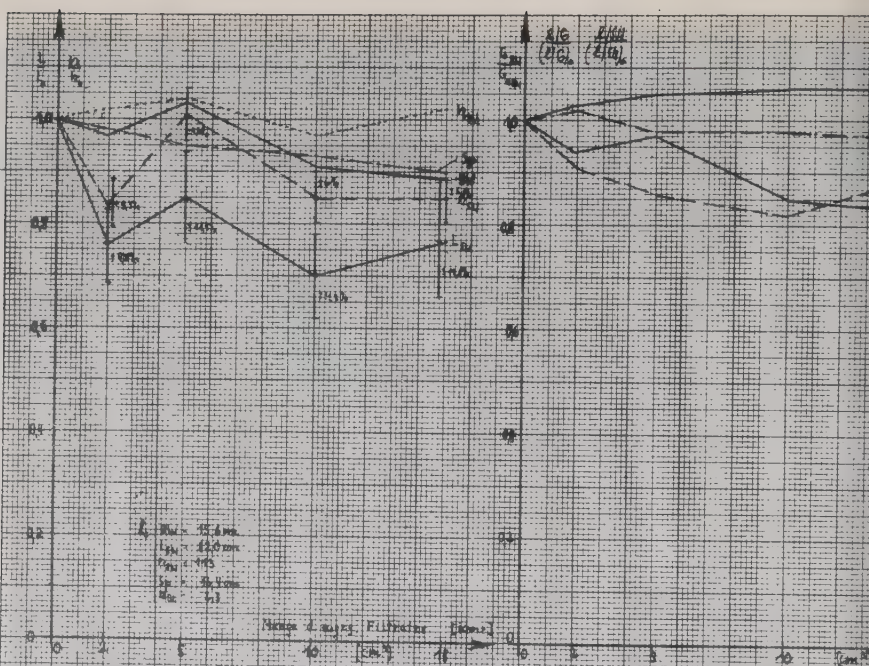
An die Versuche mit Aspergillus niger schließen sich, ihrer nahen Verwandtschaft entsprechend, diejenigen mit Verticillium glaucum an. Auch dieser Pilz neigt in starkem Maße zur Sporenbildung. Er ist wenig empfindlich in der Kultivierung und gedeiht sehr gut auf Bierwürzeagar. Die Sporenbildung auf synthetischer Nährlösung setzt dagegen erst nach ca. 12 Tagen ein und erreicht nach 20-25 Tagen ihr Optimum. Die Farbstoffabgabe durch den Pilz ist ziemlich gering, bewirkt aber immerhin einen Umschlag der farblosen Ausgangslösung ins schwach Gelbe.

Die Versuchsanordnung wurde wie bei Aspergillus niger durchgeführt. Infolge der spät einsetzenden Sporenbildung wurde der Pilz 25 Tage auf der Czapek-Dox Nährlösung belassen und danach die Kulturflüssigkeit steril filtriert. Der End- p_H -Wert betrug durchschnittlich 8,0. Die Konzentrationszugabe zur Knopschen Nährlösung blieb dieselbe. Tab. 3, Seite 39 zeigt, daß bei Zugabe des Pilzstoffwechselproduktes zur Knopschen Nährlösung entgegen den Versuchen von Aspergillus niger sich die H-Ionenkonzentration nur geringfügig ändert. Bei der höchsten Konzentration ist der p_H -Wert gegenüber den Kontrollen durchschnittlich um eine Einheit gestiegen, liegt aber immer noch in einem der Pflanze durchaus zuträglichen Bereich. Dieselben Verhältnisse treffen für alle übrigen der Pflanze gebotenen Nährlösungen zu (Tab. 3). Die Versuchsserie erhielt die Bezeichnung V. Zur Durchführung gelangten 4 Versuche (V1-V4) mit 200 Pflanzen, die denselben Bedingungen unterlagen wie diejenigen von Aspergillus niger.

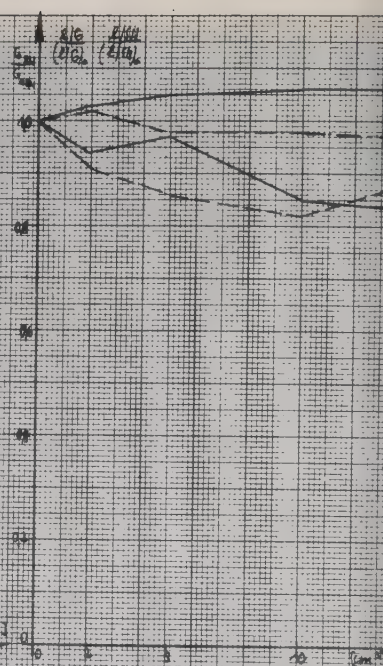
Versuchsergebnisse: Entgegen den Versuchen mit Aspergillus niger ist hier die Hemmwirkung eine sehr viel geringere, die jedoch innerhalb der einzelnen Versuche ziemlich schwankt (Abb.22). Auch wird die bisher beobachtete zunehmende Hemmung mit steigender Konzentration vermißt. Wie Abb. 23a zeigt, sind die Kurven von HW , L_{sw} und n_{sw} bis Konz. 2 abfallend, steigen bis Konz. 5 wieder an, um bis Konz. 10 erneut abzusinken. Der weitere Kurvenverlauf ist ungefähr konstant. Da dieses Kurvenbild bei allen vier durchgeführten Versuchen denselben Verlauf zeigt, kann es sich nicht um Meßfehler handeln, sondern muß



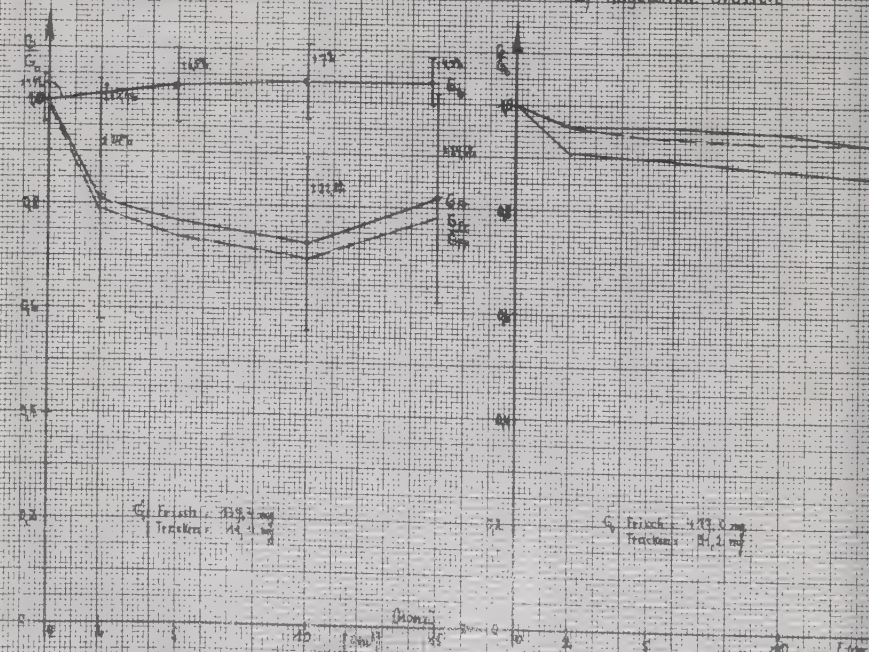
Einfluss des in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrates von Verticillium gloeum auf das Wachstum von Mais. (Mittelwert eines



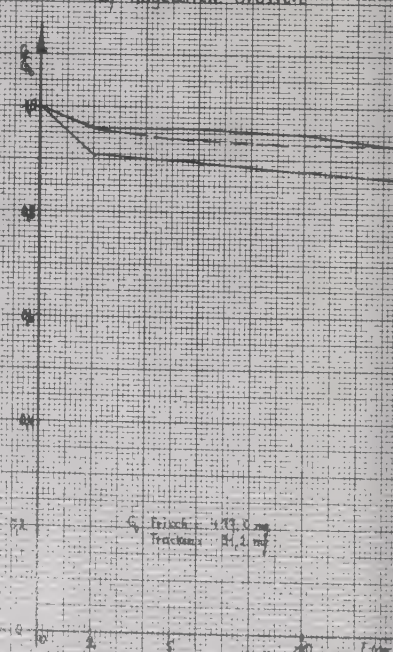
a) Längenwachstum



b) Abgeleitete Größen



c) Gewichte (Wurzelsystem)

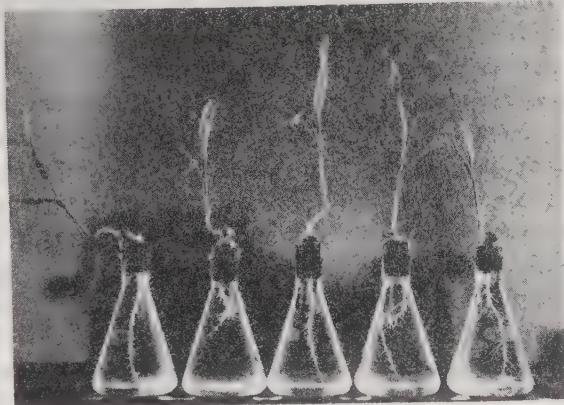


d) Gewichte (Sprosssystem)

Abb. 23. Einfluss des in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrates von Verticillium glaucum auf das Wachstum von Mais.

in der Wirkung des Pilzstoffwechselproduktes selbst begründet liegen. Auch die Streuwerte lassen keinen anderen Kurvenverlauf zu. Sie sind bedeutend höher als bei *Aspergillus niger* und schwanken bei L_{sw} zwischen 9,8%-14,8%, bei n_{sw} zwischen 4,6% - 6%. Dies mag seine Ursache in der geringeren Anzahl der durchgeführten Versuche haben. Ähnliche Kurventendenz eines geringen Wachstumsanstieges, der aber nie den Kontrollwert übersteigt, zeigt neben *Verticillium glaucum* auch *Stemphylium botryosum*.

Der hemmende Einfluß ist auf die Hauptwurzel relativ geringfügig, während die Seitenwurzeln etwas stärker davon betroffen werden. Die größere Hemmung der Seitenwurzeln gegenüber den Hauptwurzeln ist mit einer Ausnahme ganz allgemein



Konz. 15 10 5 2 0
Abb. 24. Wachstumshemmung durch Filtrate von *Verticillium glaucum*.

bei den Wachstumsversuchen mit allen hier angeführten Pilzen festzustellen. Über die Länge der einzelnen Seitenwurzel gibt Abb. 23b Aufschluß. Eine Verdickung der Wurzeln konnte wiederum beobachtet werden. Im allgemeinen bezieht sich die schädigende Wirkung des Stoffwechselproduktes nur noch auf Längenwachstum und Gewichte (Abb. 24). Die ungünstigen Nebenerscheinungen, die bei den Versuchen mit *Aspergillus niger* auftraten, so die gallertartige Beschaffenheit und die vielfach abgestorbene Wurzelspitze der HW, sowie die braunliche Verfärbung der Haupt- und Seitenwurzeln fehlen gänzlich. Das Sproßwachstum zeigt kaum Veränderungen. Die Blattspreiten haben eine Durchschnittslänge von 7-8cm, können aber in Ausnahmefällen sowohl bei den Kontrollpflanzen als auch bei den behandelten Pflanzen bis zu 15cm lang werden. Ihre Anzahl ist im großen und ganzen konstant.

Die Frischgewichte G_{Fr} wurden durch Wägung der zwischen Filtrierpapier vom anhaftenden Wasser befreiten Pflanzen ermittelt. Gewisse Abweichungen vom wirklichen Gewicht ergaben sich allerdings durch unvollkommenes Beseitigen der anhaftenden Feuchtigkeit oder durch zu starkes Abtrocknen vor der Wägung. Dies erklärt die stets hohen Streuwerte der Frischgewichte. Die Kurven der Frischgewichte des Wurzelsystems sind aus Abb. 23c zu entnehmen. Ihr Verlauf ist mit dem des Längenwachstums nicht übereinstimmend. Die Ergebnisse der Frischgewichte müssen allerdings mit Vorsicht aufgenommen werden. Sie sind hier noch sehr ungesichert, da die Streuwerte bis 29% ansteigen und der Kurvenabfall innerhalb der Streuwertgrenzen liegt. Aus diesem Grunde kann auch der Anstieg bei Konz. 15 vernachlässigt werden. Es wäre also durchaus möglich, eine abfallende oder waagerechte gerade Linie zu legen, die sich noch innerhalb des Streuwertbereiches befinden kann. Die Trockengewichte des Wurzelsystems G_{Tr} sind, wenn man sich auf die normierten Kurven bezieht, bedeutend geringer als die Frischgewichte. Wie bei den Versuchen mit *Aspergillus niger* können sie als fast konstant bezeichnet werden, wodurch das Verhältnis Frisch/Trockengewicht G_{Fr}/G_{Tr} genau dem Frischgewicht entsprechend ist. Frisch- und Trockengewichte des Sproßsystems stimmen dagegen fast überein. In beiden Fällen ist der Kurvenabfall äußerst geringfügig (Abb. 23d).

III. Versuche mit *Blastotrichum puccinoides* var. x.

Blastotrichum puccinoides ist der dritte Vertreter der Familie der Hyalosporae. Er ist ein starker Farbstoffbildner, der die Farbstoffe nicht nur im Myzel speichert, sondern auch in die Nährlösung abgibt, die dadurch gelbbraun gefärbt wird.

Die Versuchsanordnung wurde wie bei *Aspergillus niger* durchgeführt. Die Wachstumszeit des Pilzes betrug 20 Tage. Der End- p_H -Wert schwankte zwischen 7,1 und 8,3 (Tab. 3, S. 39). Die Versuchsserie wurde mit B bezeichnet. Vier Versuche mit je 50 Pflanzen gelangten zur Durchführung.

Versuchsergebnisse: Wie aus Abb. 25 ersichtlich, wirken Stoffwechselprodukte von *Blastotrichum puccinoides* auf Mais zwar bedeutend stärker hemmend als solche von *Verticillium glaucum*,

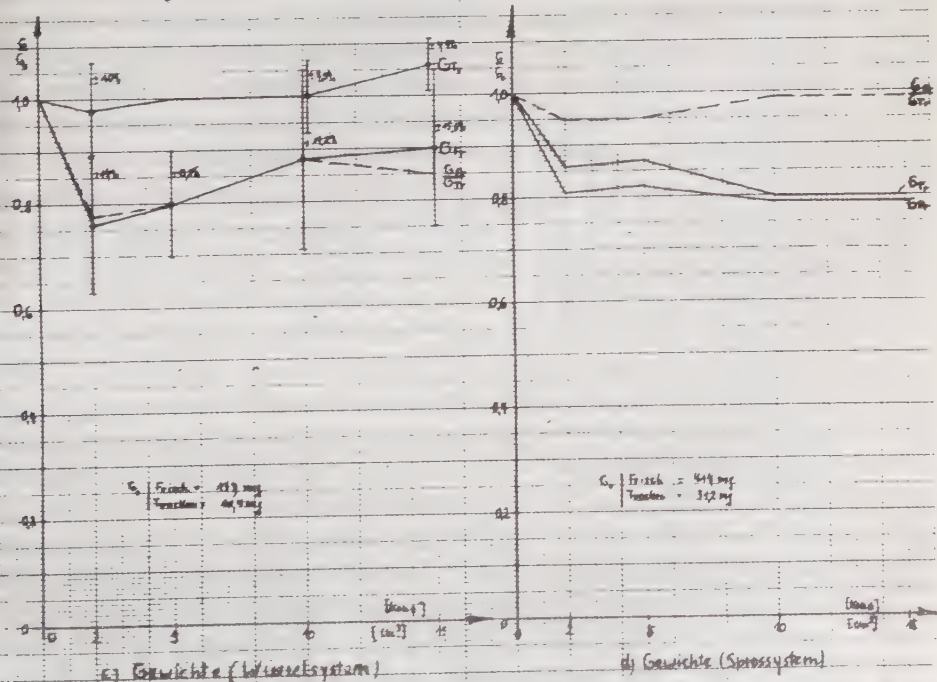
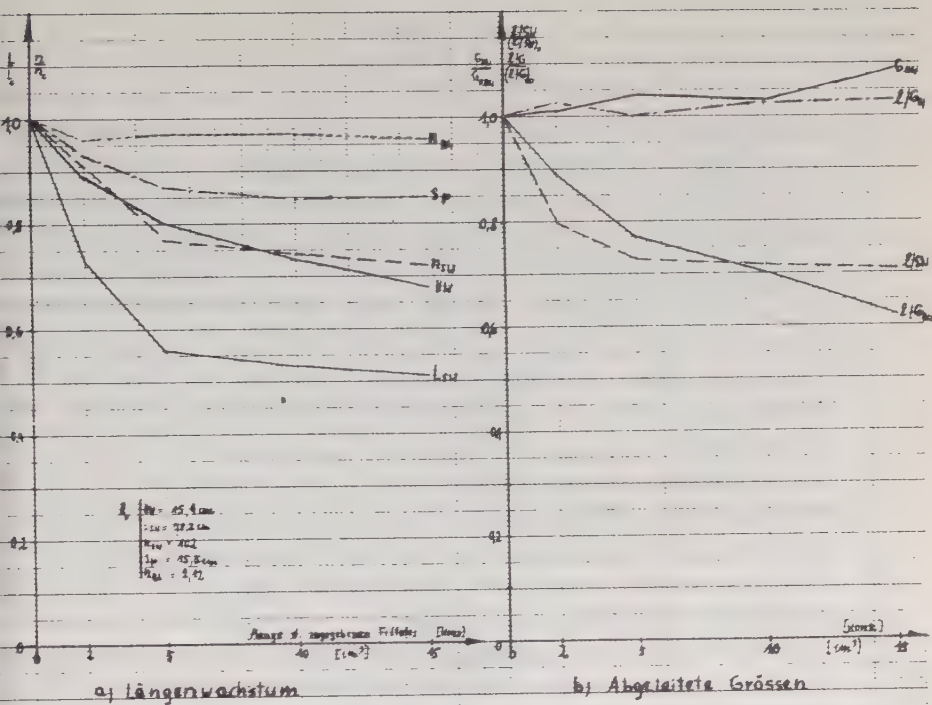


Abb. 25. Einfluss des in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrates von *Helianthus annuus* auf das

sind jedoch in keinem Maße mit der durch *Aspergillus niger* hervorgerufenen Hemmung vergleichbar. Dagegen nimmt hier, ähnlich den Versuchen mit *Aspergillus niger*, das Wachstum mit steigender Konzentration des Pilzstoffwechselproduktes stetig ab. Die Wurzeln der Kontrollpflanzen, sowie der Pflanzen der Konz. 2 und 5 sind lang, aber zumeist sehr dünn, während diejenigen der mit hohen Konzentrationen behandelten Pflanzen bedeutend kräftiger sind. Die Seitenwurzeln sind wie bei Behandlung mit *Aspergillus*-filtrate vielfach gewellt. Auch eine leicht bräunliche Verfärbung der Wurzeln macht sich zuweilen wieder bemerkbar. Hingegen fehlt die gallertartige Beschaffenheit der Hauptwurzelspitze. Die Wurzelhaarbildung ist normal. Ein mikroskopischer Querschnitt durch die Hauptwurzel ergab keinerlei Veränderungen der Zellen oder der Gefäße. Die durchschnittliche Länge der einzelnen Seitenwurzel $1/SW$ nimmt mit steigender Konzentration ab. Das Sproßsystem wird hier wieder etwas stärker von der Hemmung betroffen als bei den Versuchen mit *Verticillium glaucum*, jedoch in geringerem Umfang als das Wurzelsystem. Während nach 20-stündigem Wachstum die Blätter der Kontrollpflanzen schon 0,5 - 1 cm aus der Koleoptile herausragten, hatten erst vier Pflanzen der Konz. 15 dieses Entwicklungsstadium erreicht. Die Anzahl der Blätter ist fast konstant (Abb. 25a).

Die Kurven der Frischgewichte G_{Fr} der Wurzeln fallen anfänglich ab, um dann bis Konz. 15 wieder anzusteigen. Dieser Anstieg ist infolge der hohen Streuwerte nicht so streng zu bewerten. Die Trockengewichte G_{Tr} sind wiederum konstant (Abb. 25c). An dieser Stelle sei erwähnt, daß die Kurve des Frischgewichtes des Wurzelsystems sowohl bei *Blastotrichum* und *Verticillium* als auch bei allen noch zu besprechenden Pilzen stets sehr viel stärker abfällt als diejenige des Trockengewichtes. Da die Trockengewichtskurve zumeist bei 1 liegt, folgt der Verlauf des Verhältnisses G_{Fr}/G_{Tr} dem Kurvenverlauf des Frischgewichtes. Der Quotient Frisch/Trockengewicht des Wurzelsystems, welcher kleiner als 1 ist, läßt auf veränderte osmotische Verhältnisse in der Pflanzenzelle schließen. Diese sind zum einen auf die erhöhte Außenkonzentration zurückzuführen, zum anderen dürfte auch den Hemmstoffen, die vom Pilz in die Nährlösung ausgeschieden werden, eine nicht unmaßgebliche Rolle zufallen.

haben Untersuchungen von Guttenberg und Beythien⁵⁹⁾ ergeben, dass Hemmstoffe die Permeabilität des Protoplasten herabsetzen. Die Verfasser arbeiteten mit Cumarin, Tomatenextrakt, Benzoesäure, Ferulasäure und Äthylen). Damit wäre für die Abnahme des Frischgewichtes bei konstantem bzw. nur gering abfallendem Trockengewicht des Wurzelsystems eine Erklärung gefunden. Ganz anders liegen die Verhältnisse beim Sproßsystem, welches ja in sehr viel geringerem Maße von der Hemmung betroffen wird als das Wurzelsystem. Die Kurven der Frisch- und Trockengewichte verlaufen bei allen hier durchgeführten Versuchsreihen zumeist unmittelbar nebeneinander, d.h. das Frischgewicht entspricht dem Trockengewicht. Die Verhältniskurve G_{Fr}/G_{Tr} wird dadurch ≈ 1 . Eine Störung der osmotischen Verhältnisse wird vermutlich nicht mehr eintreten. Auch scheint die Wasseraufnahme und Wasserabgabe gleichmäßig abzusinken, so daß die Wasserbilanz des Sprosses ausgeglichen bleibt.

Versuchung über die Abnahme der Wirksamkeit des Pilzstoffwechselproduktes.

Die bisher durchgeführten Untersuchungen brachten stets dieselben Ergebnisse: Wachstumshemmung der höheren Pflanze durch die verschiedenen Pilzstoffwechselprodukte. Im Verlauf der Versuche tauchte nun die Frage auf, ob nicht die Wirksamkeit der toxischen Stoffe der Pilzfiltrate allmählich abnimmt. Um dies zu untersuchen, wurden die Pflanzen wie bisher in einer Nährlösung mit zugesetztem Pilzstoffwechselprodukt gezogen und nach einiger Zeit die Hälfte der Pflanzen in eine unverbrauchte Lösung desselben Filtrates gebracht. Anschliessend wurde der Wachstumsunterschied zwischen Kontrollen und umgesetzten Pflanzen ermittelt.

Versuchsordnung: Je 45 Erlenmeyerkolben einer jeden Konzentration wurden auf die bekannte Weise mit Knopscher Nährlösung beschickt und das Pilzfiltrat in den üblichen Konzentrationen pipettiert. Zwei Drittel der Erlenmeyerkolben wurde mit Maiskeimlingen versehen. Das restliche Drittel blieb vorerst unbelegt. Nach viertägigem Wachstum wurde die Hälfte der Maispflanzen in das soeben beschriebene restliche Drittel mit der obenbenutzten Lösung umgesetzt. Die andere Hälfte der Pflanzen

verblieb als Kontrolle in der alten Lösung. Nach weiteren zehn Tagen erfolgte die Auswertung des Versuches.

Versuchsergebnisse: In der Tat wirkt sich die Hemmung auf die umgesetzten Pflanzen etwas mehr aus als auf die normal behandelten. Die negative Beeinflussung erstreckt sich am stärksten auf die Hauptwurzel, am geringsten auf das Sproßsystem (Abb.26). Ein Hemmungsunterschied zwischen Kontrollen und umgesetzten Pflanzen tritt jedoch erst bei den Konzentrationen 10 und 15 augenfälliger zutage.

Die erzielten Ergebnisse gestatten nun den Rückschluß, daß die höhere Pflanze zur Sicherung der eigenen Existenz im Laufe ihrer Entwicklung antagonistisch wirkende Stoffe ausscheidet, die den Hemmstoff teilweise inaktivieren. Daß die Pflanze im natürlichen "Kampf ums Dasein" Stoffe produziert, die der Abwehr mikrobieller Einflüsse dienen, ist bekannt. Darüberhinaus könnten die auf die höhere Pflanze schädlich wirkenden Stoffe allerdings auch durch die Wurzeln verbraucht bzw. zerstört werden. Die Vermutung, daß die Hemmstoffe selbst durch unbekannte chemische Umsetzungen allmählich an Wirksamkeit verlieren, kann auf Grund der durchgeführten Untersuchungen weder bestätigt noch widerlegt werden, weil bei verbleibendem Charakter der Kurvenverläufe der Abb. 26 lediglich das Maß des Kurvenabfalles schwächer wäre. Im Verlauf der Untersuchungen konnte aber immer wieder festgestellt werden, daß auch wochenlang im Eisschrank aufbewahrte Pilzfiltrate (auch diejenigen der übrigen Pilze) keineswegs an Wirksamkeit einbüßten. Die Möglichkeit einer "Gewöhnung" an die für die Hemmung verantwortlichen Stoffe ist unwahrscheinlich, denn eine an den Hemmstoff "gewöhnte" Pflanze dürfte bei wiederholter Behandlung mit dem Pilzfiltrat keine größere Wachstums hemmung aufweisen. So berichtet G. Linden⁴⁰⁾ von einer "Gewöhnung" an einen Wuchsstoff. Kiefernwurzeln sollen sich beispielsweise an β -Indolyl-essigsäure und andere Wuchsstoffe gewöhnen können, sodaß die Wuchsstoffwirkung abnimmt. Da Wuchsstoffe und Hemmstoffe in enger Relation zueinander stehen, je nach Konzentrationszugabe ein jeder Wuchsstoff Hemmung, ein Hemmstoff Förderung bewirken kann, wäre die Möglichkeit einer "Gewöhnung" an dieser Stelle nicht ausgeschlossen gewesen.

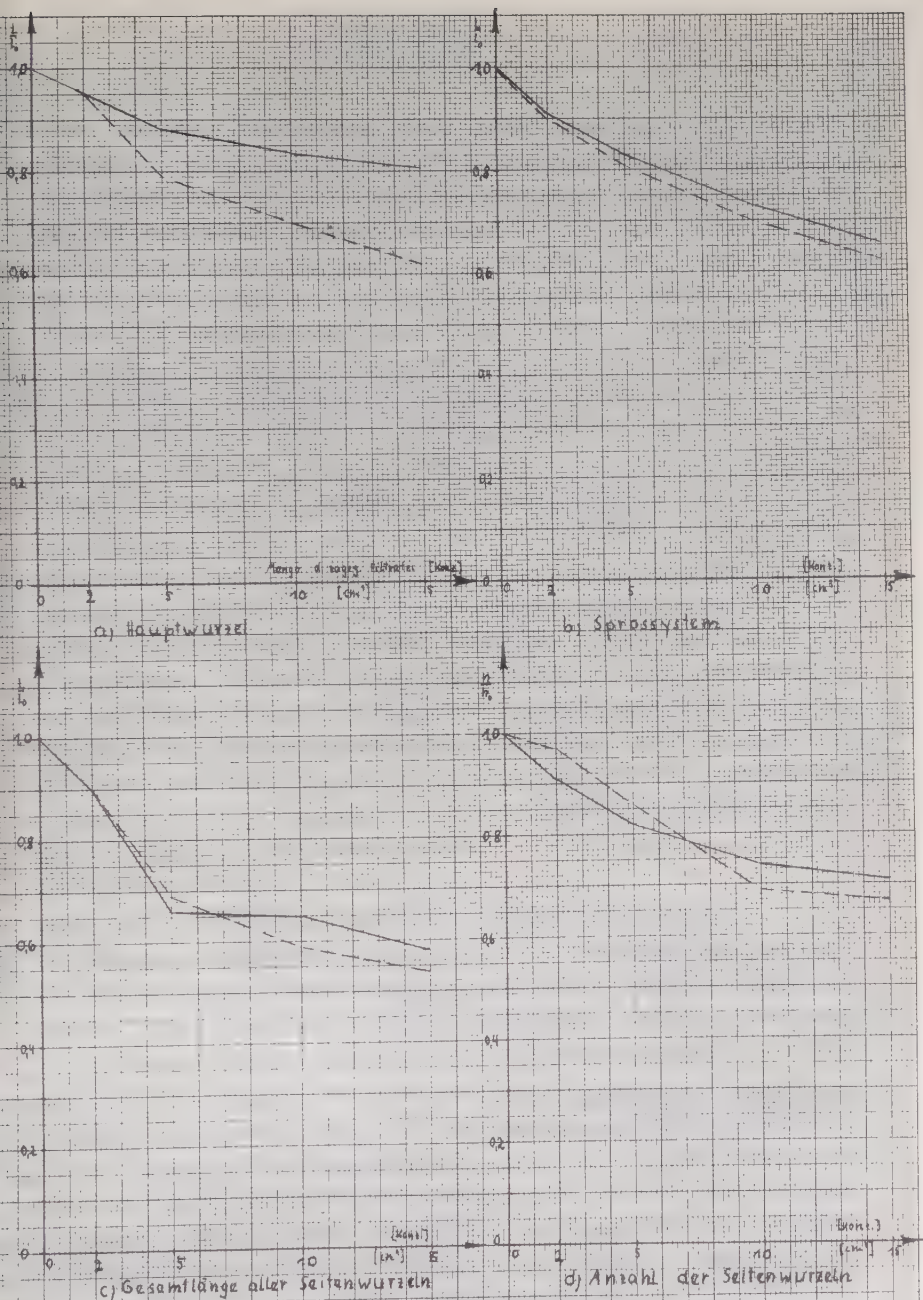


Abb. 26. Einfluss des in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrates von *Blastotrichum puccinoides* var. x auf das Wachstum von Mais.
Die durchgezogenen Linien geben den Verlauf der normal behandelten Pflanzen, die gestrichelten Linien den der wiederholt behandelten Pflanzen wieder.

Ob die höhere Pflanze den toxischen Einfluß im weiteren wachstumsverlauf endgültig überwindet, bzw. der Hemmstoff restlos verbraucht wird, ist unbewiesen. Weitere Untersuchungen in dieser Frage konnten bei Mais als Testpflanze nicht durchgeführt werden, da die Messung der zahlreich gebildeten Seitenwurzeln bei einer älteren Pflanze mit großen Schwierigkeiten verbunden wäre. Auch die Genauigkeit der Ergebnisse dürfte dann anzuzweifeln sein. Der Versuch, eine Testpflanze mit geringerem Seitenwurzelswachstum zu verwenden, z.B. Erbsen, konnte aus eingangs erwähnten Gründen nicht durchgeführt werden. Außerdem besteht die Möglichkeit, daß die Hemmstoffe, die ja vielfach spezifisch wirken, eine andere Pflanze auch in ganz anderem Grade beeinflussen.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß diese Untersuchungen nur mit *Blastotriphum puccinoides* var. x durchgeführt wurden und die erzielten Ergebnisse nicht auf die Stoffwechselprodukte der übrigen Pilze zu übertragen sind, wenn auch anzunehmen ist, daß dort ähnliche Verhältnisse herrschen. Da jedoch die zusätzliche Wachstums hemmung der umgesetzten Pflanzen relativ geringfügig ins Gewicht fällt, wurden die weiteren Versuche wie bisher durchgeführt.

IV. Versuche mit *Cladosporium herbarum*.

Systematisch schließt sich *Cladosporium herbarum* aus der Familie der Dematiaceae an. Als Vertreter der Rußtaupilze und wegen seiner weiten Verbreitung im Boden dürfte seine Wirkung höheren Pflanzen gegenüber von Interesse sein.

Die Versuchsanordnung wurde wie bisher gehandhabt. *Cladosporium herbarum* setzte im allgemeinen der Kultivierung auf synthetischer Nährlösung erhebliche Schwierigkeiten entgegen. Er zeigte sich dort vor allem Temperaturschwankungen gegenüber sehr empfindlich und gedieh am besten bei einer Temperatur um 22°C. Da der Pilz in manchen Kulturgefäßen kaum zur Entwicklung kam, war es erforderlich, stets eine größere Anzahl von Erlenmeyerkolben zu beimpfen. Nach 25-tägiger Wachstumszeit wurden die mit einer kräftigen, das ganze Substrat überziehenden Pilzdecke

versehenen Kulturen ausgewählt und das Stoffwechselprodukt steril filtriert. Die Farbstoffabgabe des Pilzes in die Nährlösung ist gering. Das Kulturfiltrat färbt sich erst nach 15-20tägigem Wachstum schwachgelb. Der p_H -Wert der Kulturflüssigkeit schwankte zwischen 7,6 und 7,95 (Tab.3, S.39). 3 Versuche mit je 50 Pflanzen gelangten zur Durchführung. Die Versuchsserie erhielt die Bezeichnung C.

Versuchsergebnisse: Nach 80-stündigem Wachstum ist zwischen Kontrollpflanzen und behandelten Pflanzen rein äußerlich noch kein Unterschied festzustellen. Erst dann setzt eine deutliche Hemmung ein. Wie bei den Versuchen mit *Aspergillus niger* und *Blastotrichum puccinoides* nimmt mit steigender Konzentration das Längenwachstum stetig ab (Abb. 27). Wie bei den vorausgehenden Versuchsserien wird die HW in geringerem Maße von der Hemmung betroffen wie die SW. Die Kurve der Seitenwurzelanzahl n_{sw} stellt sich fast als Gerade dar. Die Streuwerte der n_{sw} schwanken zwischen 5,4% und 7%, die der L_{sw} zwischen 2,9% und 7,6%. Rein äußerlich machen die Wurzeln keinen geschädigten Eindruck. Die Wurzelhaarbildung ist normal. Das Sproßsystem zeigt wie bei den Versuchen mit *Verticillium* und *Blastotrichum* die geringste Schädigung. Die Länge der Blattspreiten nimmt geringfügig ab, die Anzahl der Blätter ist fast konstant und schwankt zwischen 1,8 bis 2,2 (Abb. 27a).

Auch hier stimmen, wie bei den beiden vorausgehenden Versuchsserien, die Kurven des Längenwachstums des Wurzelsystems mit denen des Frisch-Trockengewichtes nicht überein: Trotz abfallenden Längenwachstums steigen die Kurven der Frisch- und Trockengewichte bei Konz. 5 und 10 an, um bis Konz. 15 wieder abzufallen. Infolge der sehr hohen Streuwerte der Frischgewichte (bis 26%) sind auch hier die Ergebnisse nicht gesichert. Unter Einbeziehung der Streuwerte können die Kurven ebensogut anfänglich abfallen, um dann konstant zu bleiben. Da die Trockengewichtskurve, deren Streuwerte nur zwischen 1,8 bis 7% liegen, jedoch denselben schwankenden Verlauf zeigt, ist anzunehmen, daß auch die Kurven der Frischgewichte entsprechend dazu verlaufen (Abb. 27c). Die Trockengewichtskurve liegt hier wieder ungefähr bei 1. Der Kurvenverlauf des Frisch- und Trockengewichtes des Sproßsystems ist wieder sehr ähnlich mit gering abfallender Tendenz. Die Verhältniskurve ist ≈ 1 (Abb. 27d)

V. Versuche mit Stemphylium botryosum var. botrytis,

Stemphylium botryosum diente als Vertreter der Schwärzepilze, die ihren Namen der Ausbildung eines tiefschwarzen Substratzyls verdanken, sodaß in Agarkulturen die Unterseite ebenso dunkel erscheint wie die Oberseite.

Die Versuchsanordnung wurde wie bisher gehandhabt. Die Wachstumszeit des Pilzes betrug 20 Tage. Der End- p_H -Wert schwankte zwischen 8,0 - 8,3 (Tab. 3, S.39). Die Farbstoffabgabe des Pilzes in die Nährlösung ist gering. Nach 20-tägigem Wachstum war die Kulturflüssigkeit schwach gelb gefärbt. Die Versuchsserie wurde mit S bezeichnet. Drei Versuche mit je 50 Pflanzen gelangten zur Durchführung.

Versuchsergebnisse: Die Wachstumshemmung ist hier so geringfügig, daß sie rein äußerlich kaum mehr in Erscheinung tritt. Erst die sorgfältige Messung klärt die wirklichen Verhältnisse. Das Kurvenbild zeigt gewisse Parallelen zu demjenigen von Verticillium glaucum (Abb. 28). Die Kurve der Gesamtlänge aller Seitenwurzeln L_{sw} fällt anfänglich rasch ab, hat beim Konzentrationspunkt 5 ihren tiefsten Wert, um dann wieder anzusteigen. Wie bei Verticillium glaucum wird aber keine Förderung im Sinne erreicht, daß der Kontrollwert überschritten wird. Trotz des eigenartigen Kurvenverlaufes sind die erhaltenen Werte als gesichert anzusehen, da alle Einzelversuche dasselbe Kurvenbild ergaben. Derselbe Anstieg trifft auch für die Länge der einzelnen Seitenwurzel und für den Sproß zu, was wiederum für dessen Realität spricht. Die Kurve der Hauptwurzel fällt bis Konz. 5 ab und verläuft dann nur noch sehr flach. Hier tritt einmalig der Fall ein, daß Haupt- und Seitenwurzeln in fast gleichem Maße gehemmt werden. Die n_{sw} nimmt dagegen mit steigender Konzentration stetig bis auf 75% des Kontrollwertes ab. Die Wurzeln machen keinerlei geschädigten Eindruck. Sie sind voll turgeszent, ohne jede bräunliche Verfärbung und nicht mehr verdickt. Die Wurzelhaarbildung ist normal. Im Sproßsystem kann von einer Hemmung kaum mehr die Rede sein. Die Anzahl der Blätter ist fast konstant. Sie erreicht ähnlich den Sproßlängen bei Konz. 10 ihren zweiten Gipfelpunkt.

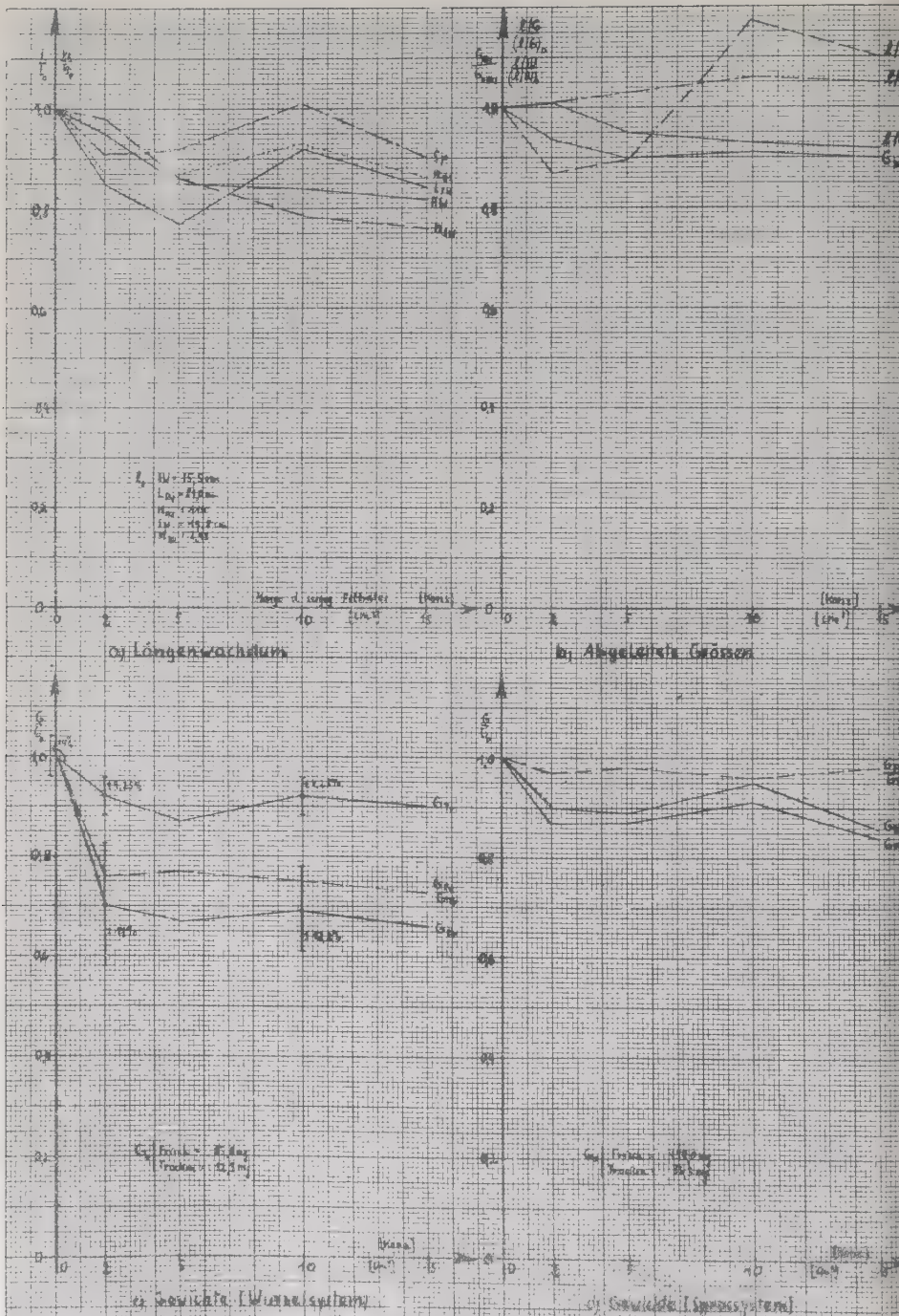


Abb. 2.9 Einfluss der in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrate von *Staphylococcus aureus* auf das Längenwachstum und die Gewichte von *Staphylococcus aureus*

Die Feinstruktur der Kurve des Frischgewichtes des Wurzelsystems entspricht der des Trockengewichtes und derjenigen des Längenwachstums der SW. Die Streuwerte sind bedeutend niedriger als bei den bisher durchgeführten Versuchen (Abb. 28c). Der Verlauf der Frisch- und Trockengewichtskurven des Sproßsystems ist sehr ähnlich und deren Verhältnis = 1 (Abb. 28d). Auch hier ist fast vollkommene Übereinstimmung mit dem Längenwachstum gegeben. Die Streuwerte sind relativ gering (1,8-10%).

VI. Versuche mit Fusarium oxysporum.

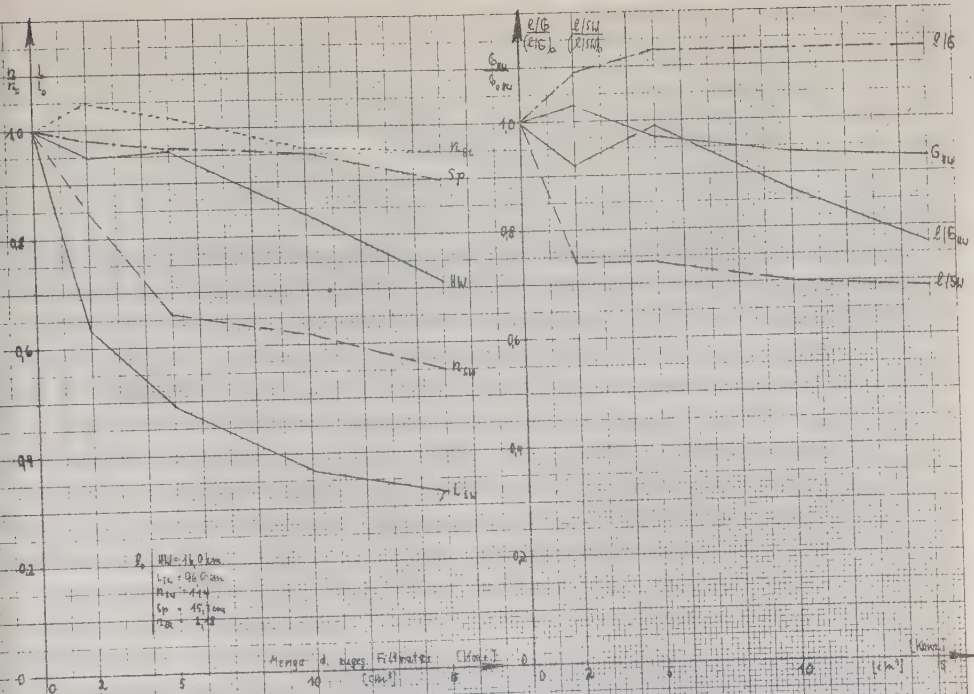
Fusarium oxysporum ist ein wichtiger Vertreter der Gattung *Fusarium*, der nicht nur saprophytisch im Boden lebt, sondern auch zahlreiche wichtige Kulturpflanzen befällt und dort Welkeerscheinungen hervorruft. So ist er der Erreger der Welkekrankheit des Rettichs, Kohls, Levkoje (*F. oxysporum* f. *conglutinans*), der Wassermelone (*F. oxysporum* f. *niveum*), der Banane (*F. oxysporum* f. *cubense*), des Alpenveilchens (*F. oxysporum* Schl. f. *cyclaminis*⁴¹⁾). Diese Welkeerscheinungen haben ihre Ursache in den Welketoxinen, den sog. Marasminen, die im Wirt funktionelle Störungen verursachen. Jeder Welkeerreger soll nach Gäumann⁴²⁾ mehrere Toxine bilden. So produziert beispielsweise *Fusarium lycopersici*, der Erreger der infektiösen Tomatenwelke, neben Fusarinsäure⁴³⁾ und Lycomarasmin, das Vasinfuscarin, das erst 1952 von Gäumann und Mitarbeitern⁴⁴⁾ entdeckt wurde. Verantwortlich für die Welkeerscheinungen, die durch *Fusarium oxysporum* verursacht werden, ist das Toxin Enniatin A, ein Polypeptid⁴²⁾.

Zahlreiche Autoren haben sich nun mit der Einwirkung dieser Welkestoffe auf die höhere Pflanze beschäftigt, von denen hier nur einige zitiert werden sollen. So haben bereits 1932 M. Lüdtké und Hikmet Achmet⁴⁵⁾ die durch Welkestoffe von *Fusarium vasinfectum* auf Tomaten- und Baumwollpflanzen hervorgerufenen Erscheinungen untersucht. Die Verfasser arbeiteten mit 8 Wochen alten, oberhalb der Wurzel abgeschnittenen Sproßteilen dieser Pflanzen, die in das Pilzstoffwechselprodukt eingestellt wurden. Sie konnten im Verlauf der Untersuchungen

feststellen, daß mit zunehmendem NH_2 -Gehalt der Welkeeffekt größer wird. Die Basizität des Filtrates (p_H 7,94) soll hier bei keine Rolle spielen. Ganz ähnliche Versuche führte Hikme Achmet⁴⁶⁾ ein Jahr später durch. Er verwendete neben *Fusarium vasinfectum* auch *Fusarium lycopersici* als Versuchspilz und untersuchte die Einwirkung ihrer Stoffwechselprodukte auf ab geschnittene Tomaten- und Baumwollpflanzen. Verantwortlich für den Welkeeffekt machte der Verfasser vor allem die toxische Wirkung der Stoffwechselprodukte. Dagegen führen Scheffer und Walker⁴⁷⁾, die ebenfalls mit abgeschnittenen Sprosteilen und Tomatenpflanzen arbeiteten, die welke auf Gefäßverstopfung also auf rein mechanische Vorgänge zurück. Zu ähnlichen Ergebnissen wie Scheffer und Walker kamen zahlreiche Verfasser bereits ein halbes Jahrhundert früher. So sollen bei direkter Beimpfung durch den Pilz die Welkeerscheinungen in der Hauptsache mechanischer Art sein und hervorgerufen werden durch:

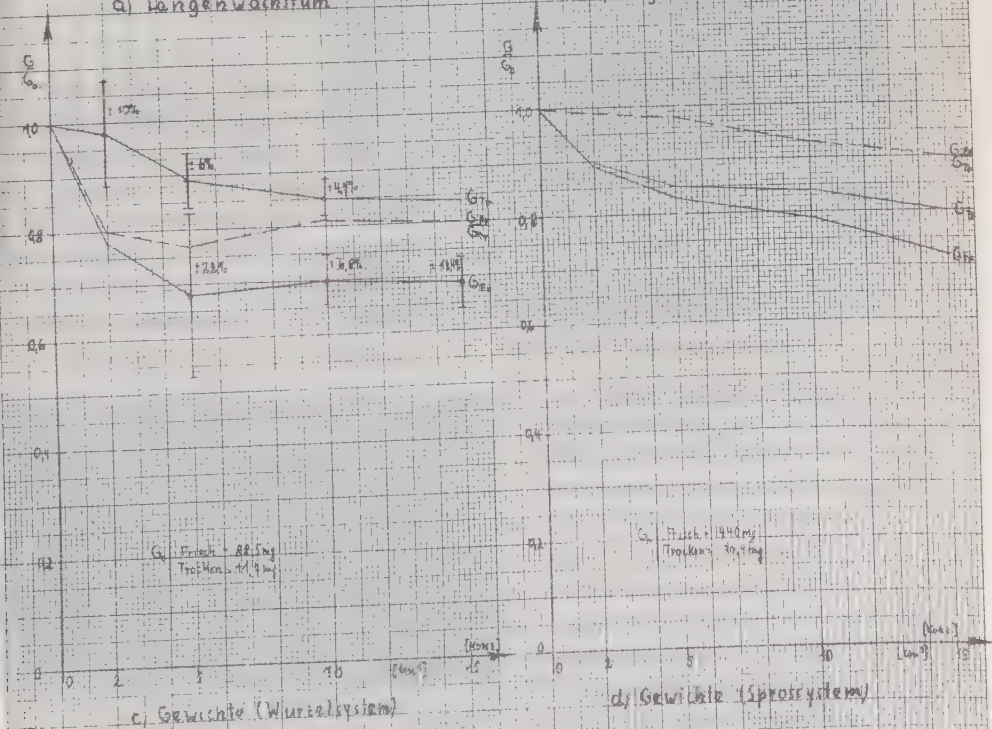
1. In die Gefäße eindringende Pilzhyphe (Smith⁴⁸⁾, Kleeblatt)
2. Gummiartige Produkte des Pilzes (Schikorra⁵⁰⁾, Bewley⁵¹⁾)
3. Zerstörung des Wurzelsystems der befallenen Pflanze durch den Parasiten (W.A. Orton⁵²⁾).

C.A. Thomas⁵³⁾ verwendete Tomatenstecklinke, die in die welke wirksame Kulturflüssigkeit gestellt wurden und konnte feststellen, daß das welkeerzeugende Agens nur im basalen Teil des Sprosses wirksam ist. Gewelkte Sprosteile erholten sich nach Einbringen in aqua dest. nur, wenn der untere Teil des Sprosses entfernt worden war. Gaumann⁴²⁾ führte unter andere die Versuche so durch, daß das Erdreich der in ihm gezogenen Tomatenpflanzen mit den Sporen des welkeerregers *Fusarium lycopersici* beimpft wurde. Lycopersin, das Toxin des *Fusarium lycopersici*, erzeugte wie Alternariasäure oder Aureomycin seine Primärsymptome in den Laubblättern, sodaß diese schon verdorrt sein konnten, während Stengel und Blattstiele noch turgeszent waren. Umgekehrt wirkte sich z.B. Fusarinsäure an Sie rief zuerst die Schädigung der Stengel, Blattstiele und Blattnerven hervor; erst später fielen die Blattspreiten der Infektion anheim.



a) Längenwachstum

b) Angegebene Größen



c) Gewichte (Wurzelsystem)

d) Gewichte (Sprosssystem)

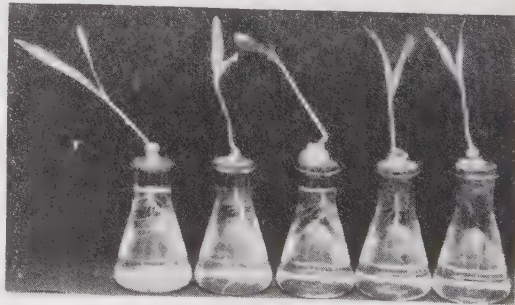
Abb. 23. Einfluss der in verschiedenen Konzentrationen gegebenen Filtrate von *Funaria hygripogon* auf das Wachstum von *Adiantum*.

Die Beobachtungen der hier zitierten Verfasser beschränkten sich auf die Wirkung von *Fusarium*-Stoffwechselprodukten auf abgeschnittene Sproßteile oder Stecklinge höherer Pflanzen, bzw. auf die Welkeerscheinungen des Sprosses, die durch infiziertes Erdreich hervorgerufen worden waren. Lediglich Hikmet Achmet brachte unter anderem die gesamte Pflanze (in Wasserkulturen gezogene, acht Wochen alte Tomatenpflanzen) in unverdünnte Kulturfiltrate von *Fusarium lycopersici* ein und konnte ähnliche Welkeerscheinungen feststellen, wie beim Einstellen des bloßen Sprosses. Hier soll nun der Versuch unternommen werden, den Einfluß verdünnter Kulturfiltrate von *Fusarium oxysporum*, welches, wie bereits erwähnt, das Toxin Enniatin A enthält, auf das Wachstum der jungen Keimpflanze zu untersuchen. Vermutlich werden aber neben Enniatin A noch andere vom Pilz abgegebene Stoffwechselprodukte das Pflanzenwachstum beeinträchtigen.

Versuchsanordnung: Die Kulturflüssigkeit wurde nach 14-tägigem Wachstum des Pilzes - *Fusarium oxysporum* wächst auf Czapek-Dox sehr gut und relativ schnell - steril filtriert und in den bekannten Konzentrationen der Knopschen Nährlösung zugegeben. Der p_H -Wert des Pilzfiltrates betrug 8,1. Die Stoffabgabe des Pilzes in die Nährlösung ist so kräftig, daß bereits nach 14-tägiger Wachstumszeit das Filtrat dunkelrot gefärbt ist. Die Versuchsserie wurde mit F bezeichnet. Vier Versuche mit 200 Pflanzen gelangten zur Durchführung.

Versuchsergebnisse:

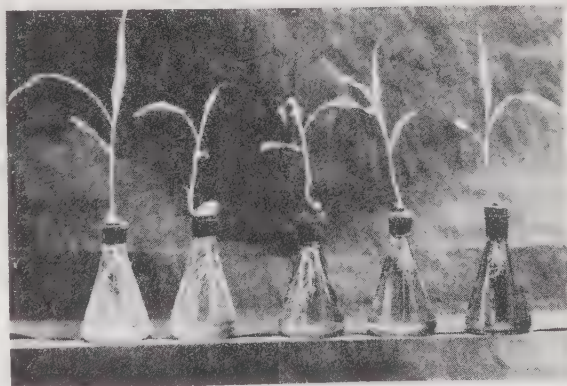
Mit steigender Konzentration nimmt das Längenwachstum stetig ab, was aus Abb. 29a und 30 ersichtlich wird. Stoffwechselprodukte von *Fusarium oxysporum* wirken nach *Aspergillus niger* neben *Cladosporium herbarum* am stärksten hemmend auf das Seitenwurz-



Konz. 0 2 5 10 15
Abb. 30. Wachstumshemmung durch Filtrate von *Fusarium oxysporum*.

wachstum ein. Die Seitenwurzeln der Konz. 10 und 15 sind zahlreich, aber oft kurz, zuweilen gewunden und in der Hauptsache auf die obere Hälfte der Hauptwurzel konzentriert. Die Wurzeln der Konz. 15 nehmen durch das längere Verbleiben in der gefärbten Nährlösung vielfach deren rötliche Färbung an. Wie in allen vorausgehenden Versuchen reagiert die Wurzel viel sensibler auf die Stoffwechselprodukte als der Sproß. Der Sproß spricht auf die gegebenen Konzentrationen kaum mehr an. Die Anzahl der Blätter ist konstant. Die Blattspreiten haben eine Durchschnittslänge von 8-9cm, können aber bis zu 16cm lang werden. Welkeerscheinungen waren auch nach dreiwöchigem Wachstum nicht zu beobachten. Die Blätter behalten bis zum Abbrechen des Versuches ihre volle Turgeszenz (Abb.31).

Die Kurven der Frisch- und Trockengewichte von Wurzel- und Sproßsystem zeigen keine Besonderheiten gegenüber den Ergebnissen der früher beschriebenen Versuche.



Konz. 0 2 5 10 15

Das völlige Fehlen der Welkeerscheinungen

Abb. 31. Wachstumshemmung durch Filtrate von *Fusarium oxysporum* (3 Wochen nach Versuchsbeginn).

der höheren Pflanze auch nach dreiwöchigem Wachstum gibt nun zu folgenden Fragen Anlaß: Ist der hier isolierte Stamm von *Fusarium oxysporum* überhaupt ein Welkestoffproduzent oder handelt es sich bei den Stoffen, die ja zweifelsohne das Wurzelwachstum erheblich hemmen, um Hemmstoffe irgendwelcher anderer Art? Vogel⁵⁴⁾ rechnet das Enniatin A zu den Antibiotica. Es soll gegen grampositive und säurefeste Organismen aktiv sein. Nach seinen Angaben sollen sich die aktiven Substanzen von *Fusarium oxysporum* aber nur im Myzel vorfinden. Auch Gäumann

und Mitarbeiter⁵⁵⁾ berichten von einer Anreicherung des Antibioticums im Myzel, das nur spurenweise in das Medium ausgeschieden werden soll. So soll, berechnet auf die gleiche Menge Nährlösung, das Myzel 50-100 mal mehr Enniatin enthalten als das Kulturfiltrat. Da in unserem Falle nur die Pilzfiltrate zur Anwendung kamen, wäre hier schon eine hinreichende Erklärung für das Fehlen der Welkeerscheinungen gefunden. Immerhin besteht jedoch die Möglichkeit, daß *Fusarium oxysporum* neben Enniatin A auch noch andere Welkestoffe erzeugt, da nach Gäumann⁴²⁾ jeder Welkeerregers zur Bildung mehrerer Toxine befähigt sein soll. Für den Pilz ist allerdings außer Enniatin A noch kein anderes Welketoxin bekannt und es wurde auch bisher die Wirkung seiner Kulturfiltrate auf die höhere Pflanze noch nicht untersucht.

So wurde darüberhinaus noch nach anderen Gründen gesucht, die, falls es sich hier um einen Welkestoffproduzenten handeln sollte, die fehlenden Welkeeffekte rechtfertigen könnten. Nach Gäumann⁴²⁾ sollen die jungen Blätter ganz junger Vegetationspunkte relativ toxinunempfindlich sein. Kalyanasundarain und Lakshminarayanan⁵⁶⁾ stellten fest, daß nur unverdünnte Filtrate typische Welkeerscheinungen hervorrufen, bei verdünnten Filtraten bleiben jedoch die toxischen Reaktionen aus. Fernerhin besteht die Möglichkeit, daß die eventuell hier in Frage kommenden Welketoxine nur am Ort der Behandlung wirken, d.h. nur wenn sie dem Sproß unmittelbar zugeführt werden.

Alle diese Vermutungen können jedoch auf Grund eigener Versuche nicht zutreffen. Im Verlauf dieser wurden 8 Tage alte, sowie 4 Wochen alte, in Erde gezogene Maispflanzen oberhalb der Wurzel abgeschnitten und in eine 20 Tage alte, unverdünnte Kulturflüssigkeit von *Fusarium oxysporum* eingestellt. Die Kontrollpflanzen wuchsen in Leitungswasser. Der Welketod erfolgte allmählich und konnte sowohl bei den Kontrollen als auch bei den im Pilzfiltrat wachsenden Pflanzen gleichzeitig erst nach siebentägigem Wachstum festgestellt werden. Zur Sicherung der Ergebnisse wurden mehrere Versuche dieser Art angesetzt.

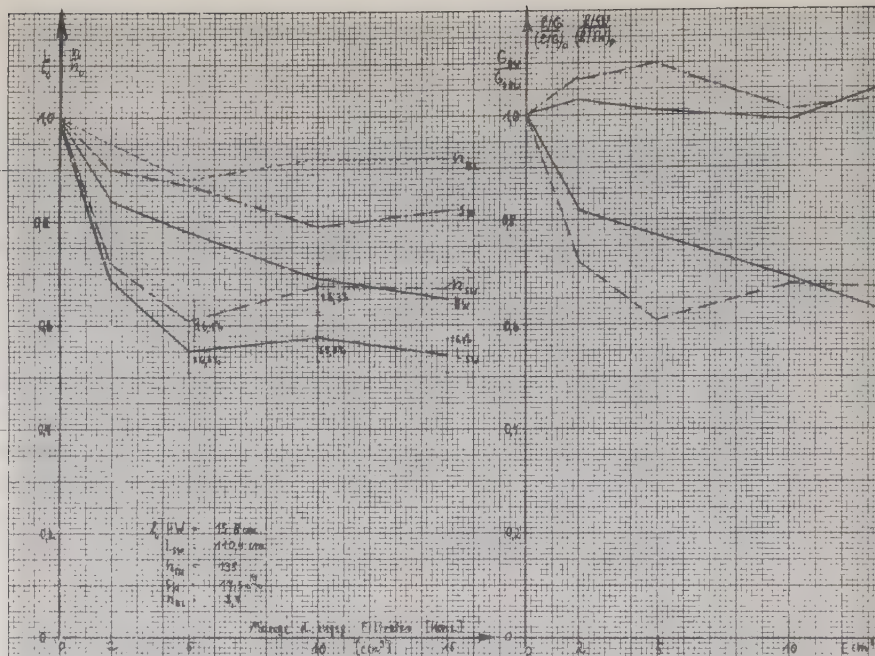
Auf Grund dieser Untersuchungen ist anzunehmen, daß der hier isolierte Stamm von *Fusarium oxysporum* entweder überhaupt keine Welkestoffe abgibt oder daß es sich tatsächlich um im Myzel lokalisiertes Enniatin A handelt. Andere Marasmine hätten unbedingt einen Welkeeffekt auslösen müssen, da alle hier zitierten Autoren einen solchen mit den Kulturflüssigkeiten der Pilze erzielen konnten. Die einzige Unsicherheit der Ergebnisse liegt vielleicht darin, daß Mais auf Welkestoffe überhaupt nicht anspricht. Im allgemeinen kann angenommen werden, daß es sich bei den Stoffen, die das Wachstum der höheren Pflanze, insbesondere der Wurzeln, immerhin erheblich hemmen, aber keinen Welkeeffekt erzielen, um keine Welkestoffe handelt, sondern um Toxine irgendwelcher anderer Art.

VII. Versuche mit *Mucor racemosus*.

Die Untersuchungsreihe endet mit *Mucor racemosus*, einem Vertreter der Phycomyceten. Wie schon auf Seite 32 erwähnt, geben Phycomyceten im allgemeinen keine Stoffe ab, die auf Bakterien hemmend oder abtötend wirken. Die Frage, wie Stoffwechselprodukte von *Mucor racemosus* das Wachstum der höheren Pflanze beeinflussen, dürfte somit von besonderem Interesse sein.

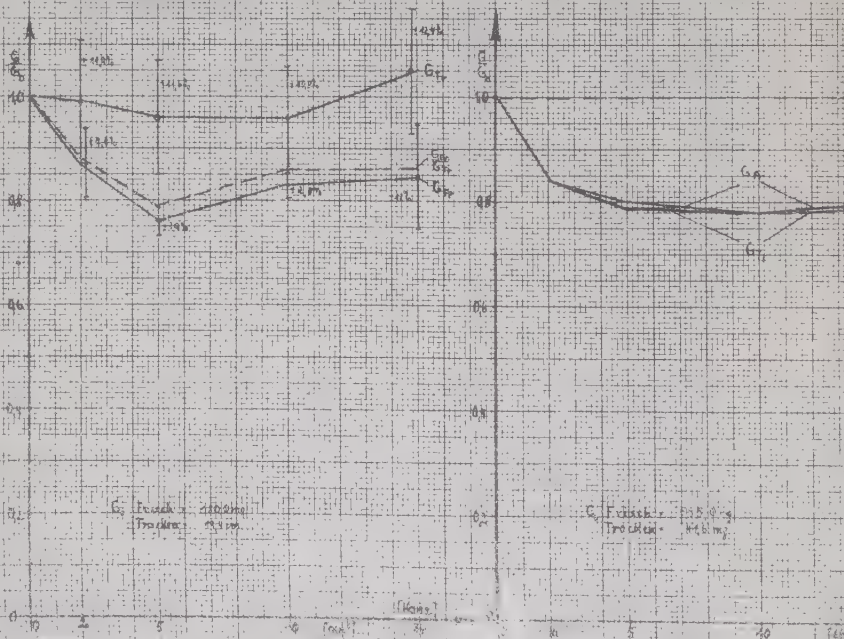
Versuchsanordnung: Der Pilz wächst auf Czapek-Dox Nährlösung sehr gut und relativ rasch, sodaß bereits nach 12-tägigem Wachstum das hellgelbe Stoffwechselprodukt, welches sich nach 4 Wochen etwas dunkler verfärbt, gewonnen werden konnte. Der End-pH-Wert der Czapek-Dox Nährlösung schwankte zwischen 4,6 - 5,1 (Tab. 3, S. 39). Die übrigen Versuchsbedingungen blieben dieselben. Es wurde eine Versuchsserie durchgeführt mit der Bezeichnung M, bestehend aus 4 Versuchen mit 200 Pflanzen.

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse lehren, daß tatsächlich auch *Mucor racemosus* Stoffe in die Kulturflüssigkeit ausscheidet, die das Wachstum von Mais in negativer Hinsicht zu beeinflussen vermögen. Die Hauptwurzel zeigt nach den Versuchen mit *Aspergillus niger* die stärkste Hemmung (Fig. 32a). Die Kurve



a) Längenschnitt

b) Abgelesene Größen



c) Gewicht (Werkstoffsystem)

d) Gewicht (Luftsystem)

Abb. 22. Verlauf des in wassergetrockneten Holzmaterialien gemessenen Feuchte- und Masseverlustes bei der Trocknung von Holz.

der Gesamtlänge aller Seitenwurzeln L_{sw} fällt bis Konz. 5 ziemlich stark ab und behält dann fast ihren konstanten wert. Der Knick beim Konzentrationspunkt 10 kann vernachlässigt werden, da er innerhalb des Streuwertbereiches liegt. Ähnlich ist der Verlauf der n_{sw} . Die Seitenwurzeln sind wie bei den Versuchen mit *Fusa-*

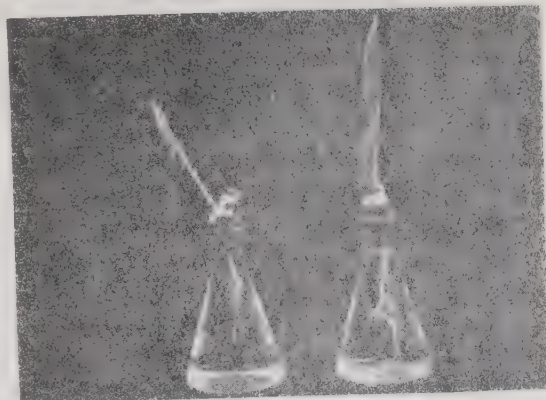
rium oxysporum bei hohen Konzentrationen in großer Anzahl zumeist um einen kleinen Abschnitt der Hauptwurzel gruppiert (Abb. 33).

Vielfach sind die Wurzeln wieder etwas verdickt. Die Länge der einzelnen Seitenwurzel l_{sw}

nimmt nur um ein Geringes ab. Das Sproßsystem erweist sich, wie in allen

übrigen Versuchen, der Hemmung gegenüber weniger empfindlich als das Wurzelsystem (Abb. 32a). Die Anzahl der Blätter ist fast konstant, ihre Länge nimmt mit steigender Konzentration geringfügig ab

Die Kurve der Frischgewichte des Wurzelsystems entspricht vollkommen dem Kurvenverlauf der n_{sw} . Die Trockengewichte können als fast konstant bezeichnet werden (Abb. 32c). Die Frisch-Trockengewichtskurven des Sproßsystems verlaufen vollkommen gleich und stimmen mit denen des Längenwachstums überein. Das Verhältnis Frisch/Trockengewicht = 1 (Abb. 32d).



Konz.

15

0

Abb. 33. Häufung der Seitenwurzeln um einen kleinen Abschnitt der Hauptwurzel.

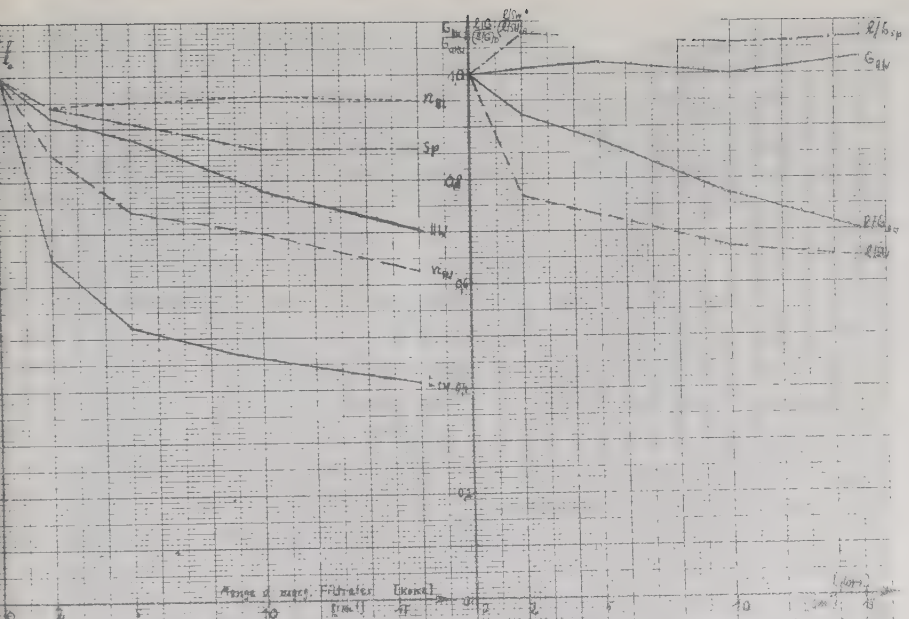
VIII. Diskussion der Ergebnisse.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche ermittelten die Wirkung der Stoffwechselprodukte der einzelnen Pilze auf die höhere Pflanze. Dabei sind folgende Ergebnisse klar herauszustellen:

Für das Längenwachstum sind innerhalb der Versuche zwei Kurventypen zu unterscheiden: Erstens die mit steigender Konzentration des Pilzfiltrates stetig abfallende Kurve, welche den Beweis für allmählich zunehmende Hemmung mit steigender Menge des zugegebenen Pilzfiltrates liefert. Diesen Kurventyp bewirken die Stoffwechselprodukte von *Aspergillus niger*, *blastotrichum puccinoides* var. x, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum* und *Mucor racemosus*. Abb. 34 gibt den typischen Kurvenverlauf der Wachstumshemmung durch obengenannte Pilzfiltrate wieder. Es wurden die Durchschnittswerte der einzelnen Versuchsserien zusammengefaßt. Unberücksichtigt blieben die Werte aus den *Aspergillus*-Versuchen, da sie die Kurven unzulässig in Bezug auf den Hemmungsgrad verzerrt hätten. Der zweite Kurventypus schließt die Stoffwechselprodukte von *Verticillium glaucum* und *Stemphylium botryosum* var. *botrytis* ein (Abb. 23, S. 57 und 28, S. 64). Der Kurvenverlauf ist hier nicht stetig, sondern zeigt ein abwechselndes Ansteigen und Abfallen, sodaß man nicht mehr von einer stetig zunehmenden Hemmung bei Konzentrationssteigerung sprechen kann. Die Höhe des Kontrollwertes wird mit Ausnahme der Hauptwurzel und der Anzahl der Seitenwurzeln bei den mit *Verticillium*-Filtraten behandelten Pflanzen nie erreicht.

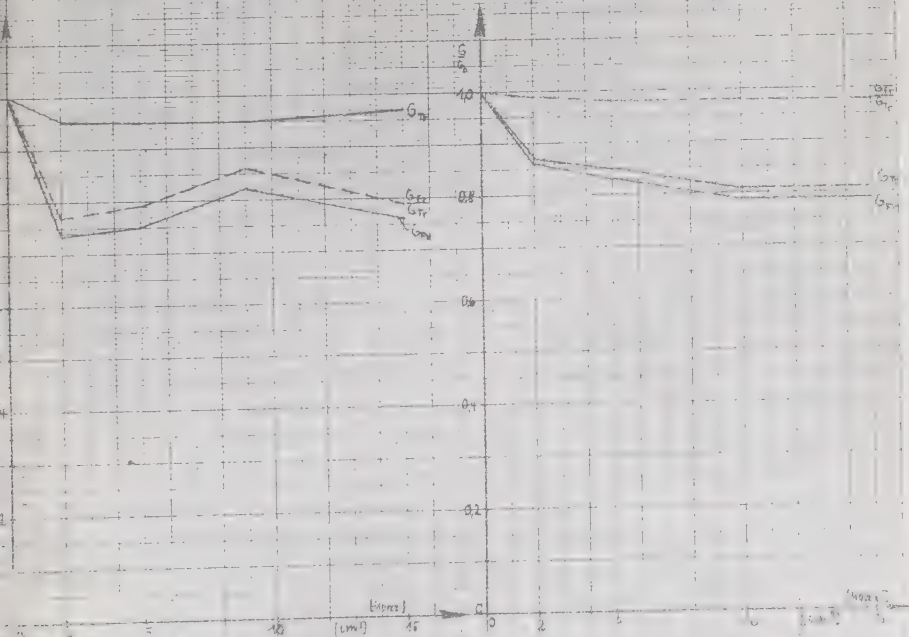
Den Pilzfiltraten beider Kurventypen ist gemeinsam, daß sie das Wurzelsystem bedeutend starker hemmen als das Sproßsystem, wobei die Seitenwurzeln die größte Schädigung aufweisen. Nur in einem Fall, durch *Stemphylium*-Filtrate, werden Haupt- und Seitenwurzeln gleich stark gehemmt. Die Anzahl der Blätter ⁿBl bleibt, mit Ausnahme der durch *Aspergillus*-Filtrate behandelten Pflanzen, durchwegs konstant.

Für die Gewichte sind die für das Längenwachstum gültigen Kurventypen nicht zutreffend. Hier lassen sich für sämtliche wachs-



a) Längenwachstum

b) Abgeleitete Grössen



c) Gewichte (Wurzelsystem)

d) Gewichte (Sprosssystem)

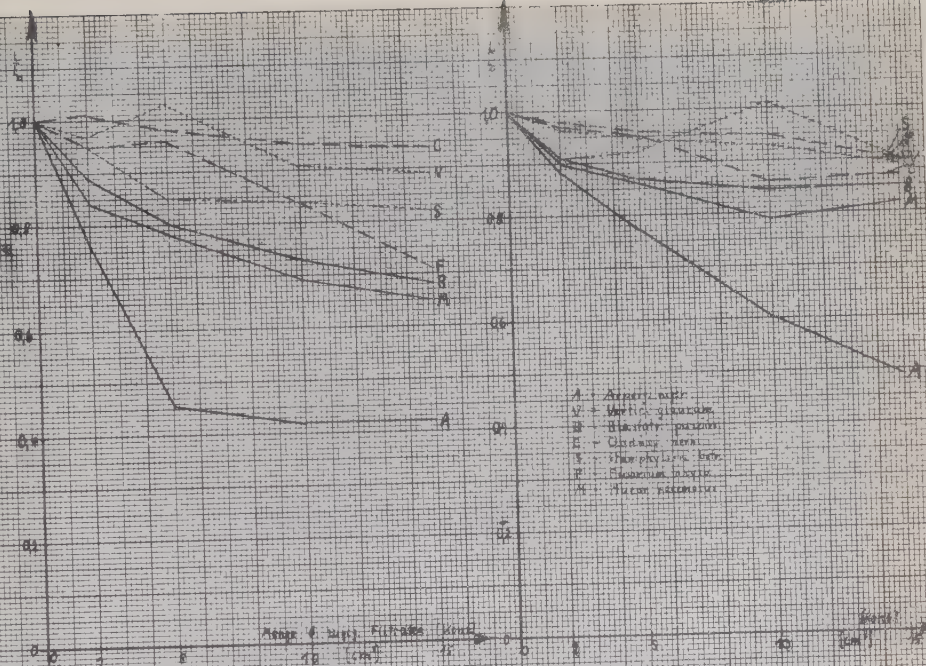
Abb. 28. Indem man die durchschnittlichen Werte der Wachstumsparameter von *Richtiastrum punctatum* var. *r.*, *Cladostemon herbaceum*, *Salix repens* und *Brassica napus* vergleicht.

tumsversuche folgende Gesetzmäßigkeiten erkennen: Bezieht man sich auf die normierten Kurven, so fällt auf, daß das Trockengewicht des Wurzelsystems fast konstant bleibt oder höchstens geringfügig abnimmt (Abb. 34c, 37c). Das Trockengewicht der Hauptwurzel ist s t e t s konstant (Abb. 36c). Da das Frisch/Trockengewichtsverhältnis im allgemeinen absinkt (Abb. 34c, 37e), kann auf veränderte osmotische Verhältnisse in der Wurzelzelle geschlossen werden. Verantwortlich dafür dürfte neben der erhöhten Außenkonzentration der Nährlösung durch die zugegebenen Pilzfiltrate, möglicherweise die Verminderung der Permeabilität des Protoplasten durch die Hemmstoff gemacht werden. Im Gegensatz dazu sind beim Sproßsystem die Frisch- und Trockengewichte im großen und ganzen gleich, wodurch das Verhältnis Frisch/Trockengewicht konstant bei 1 liegt (Abb. 34d, 37 b,d,f). Die osmotischen Verhältnisse scheinen hier demnach nicht mehr gestört zu sein. Der Kurvenverlauf von Längenwachstum und Gewichten ist beim Sproßsystem im allgemeinen übereinstimmend (Abb. 35b, 37 b,d).

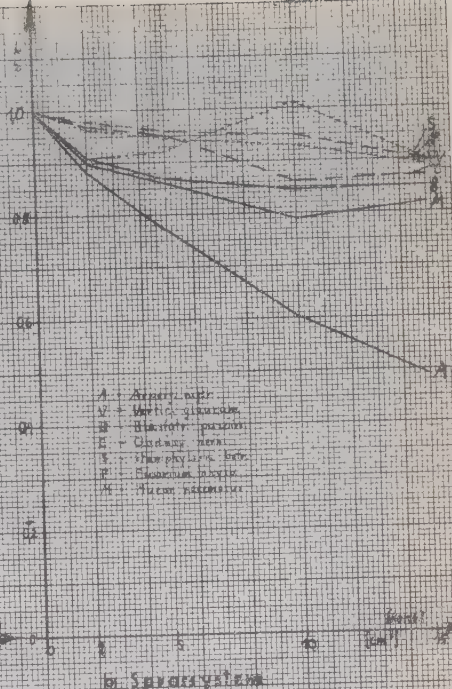
Die spezifische Länge der Hauptwurzeln zeigt weitgehende Ähnlichkeit mit der Länge der Hauptwurzel, da ja das Trockengewicht der Wurzeln ≈ 1 ist (Abb. 35a, 36a). Die spezifische Länge des Sproßsystems bleibt mit Ausnahme von *Aspergillus niger* konstant bzw. steigt geringfügig an (Abb. 36b). Keine allgemein gültige Aussage läßt sich über die l/SW machen.

Bisher wurden alle Größen des Längenwachstums, der Gewichte usw. innerhalb eines bestimmten Pilzfiltrates zusammengefaßt. Nun soll die Wirkung sämtlicher Pilzfiltrate auf eine bestimmte Größe in einem Bild vereinigt werden, um die Einflüsse der Pilzfiltrate auch untereinander vergleichen zu können. Abb. 35-37 zeigen, daß Stoffwechselprodukte von *Aspergillus niger* sowohl das Wurzel- als auch das Sproßsystem am stärksten hemmen, während man *Verticillium glaucum* und *Stemphylium botryosum* als die schwächsten Hemmstoffproduzenten bezeichnen kann. Bei den übrigen Pilzen ist zunächst keine klar abgestufte Hemmwirkung zu erkennen.

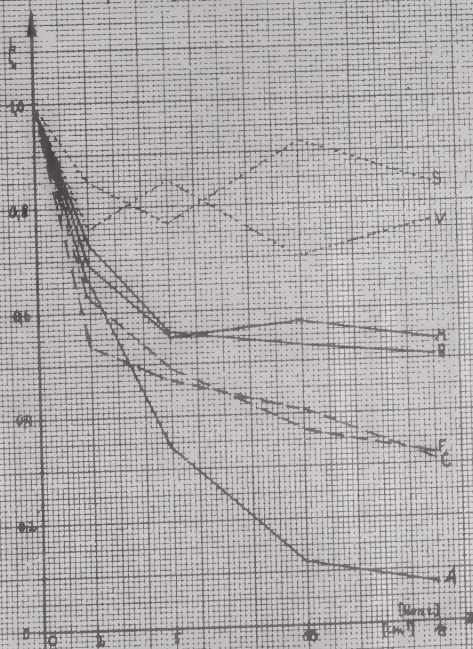
Zur quantitativen Erfassung der Wirkung der Pilzfiltrate, sowie zur Feststellung verwandter Beziehungen in Bezug auf ihre Hemmweise, wurde in Abb. 35-37 die mittlere Hemmgröße zwischen



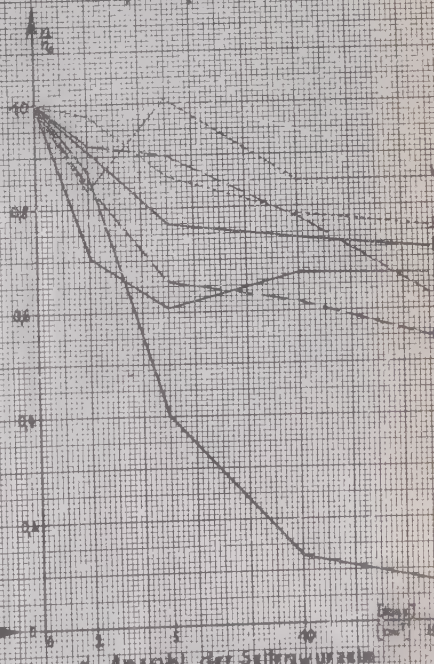
a) Hauptwurzel



b) Sparsysteme

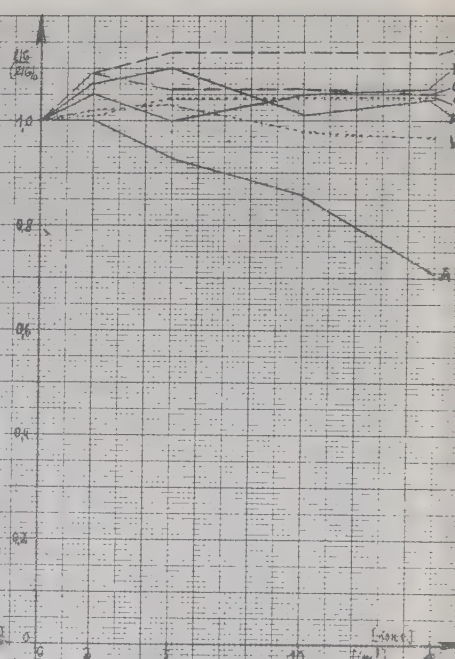
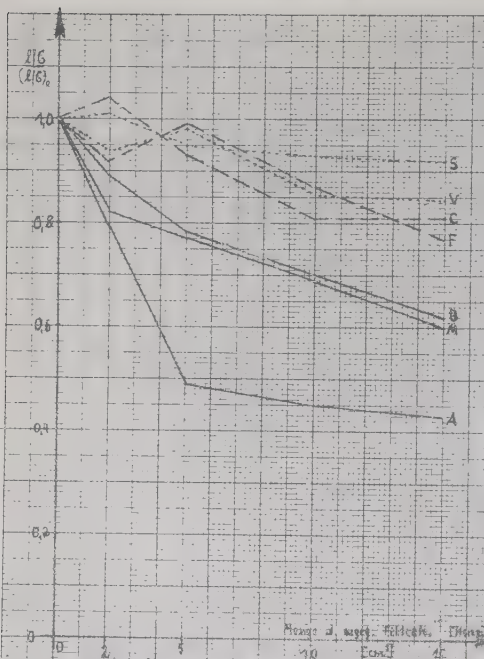


c) Gesamtlänge aller Seitenwurzeln



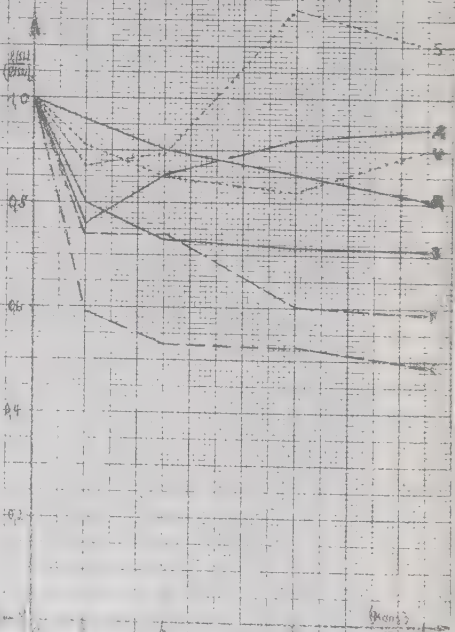
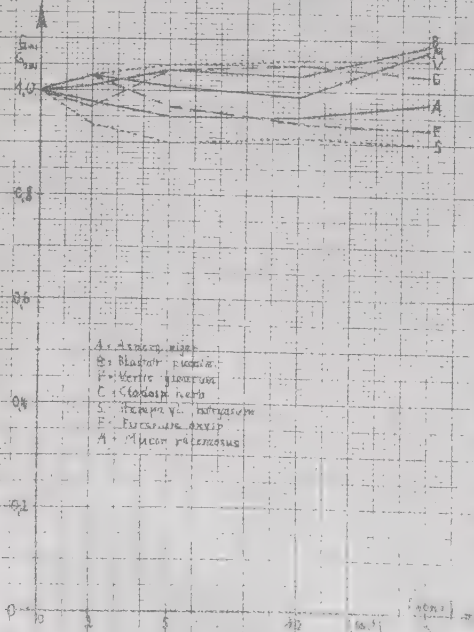
d) Anzahl der Seitenwurzeln

Abb. 35. Vergleichende Darstellung der Beeinflussung des Längenwachstums von Mais durch verschiedene Filzdrüsen.



a) Spezifische Länge der Hauptwurzel

b) Spezifische Länge des Sprosssystems



- A: *Andropogon scoparius*
- S: *Sida pinnatifida*
- V: *Vicia pinnatifida*
- C: *Cleome pinnatifida*
- F: *Faba pinnatifida*
- M: *Mimosa pudica*

a) Wachstum der Hauptwurzel

b) Wachstum des sprosssystems

Abb. 36. Wachstumsverläufe der Hauptwurzel und sprosssystems

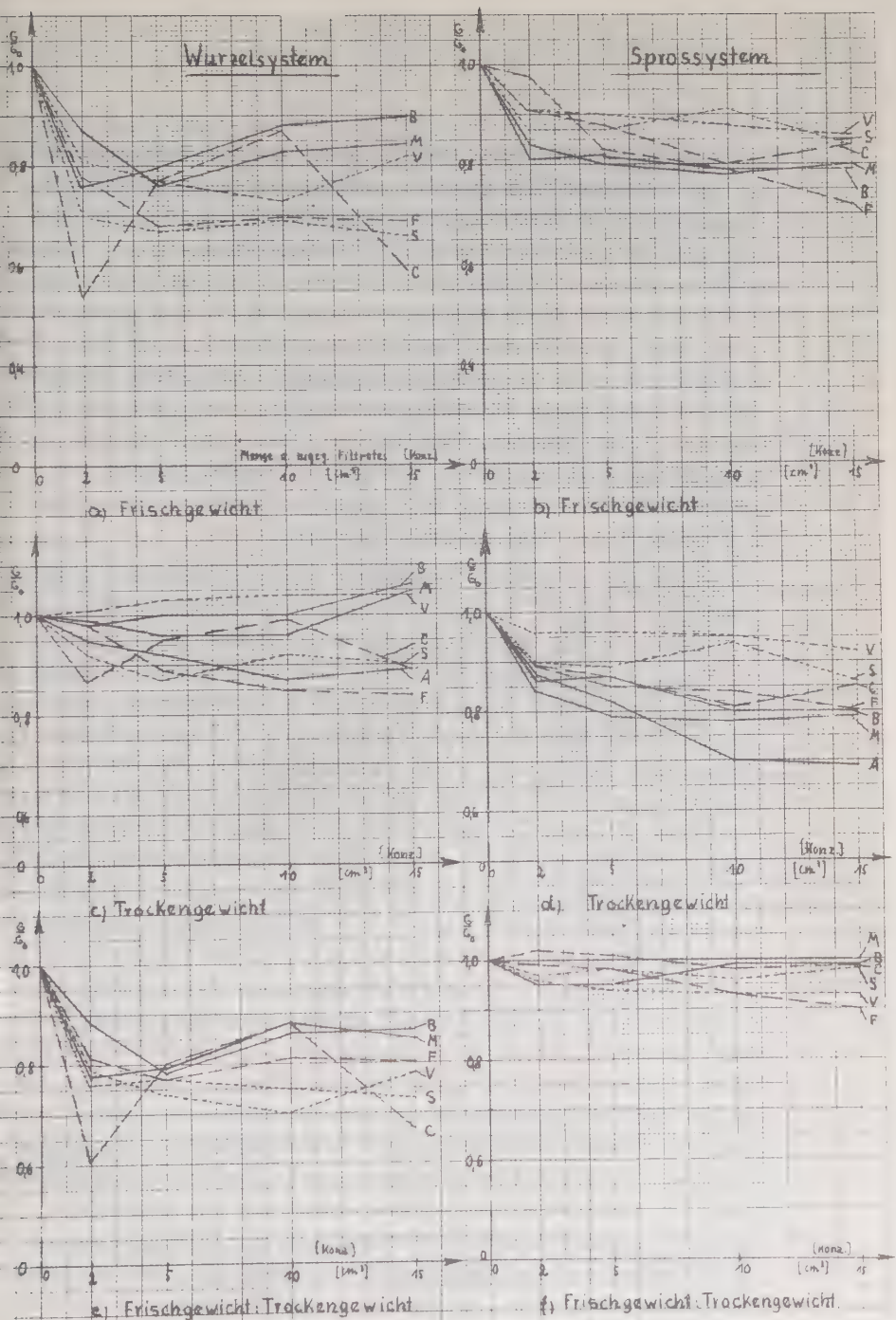


Abb. 37. Vergleichende Darstellung der Beeinflussung der Frisch- und Trockengewichte von Mais durch verschiedene Pilafiltrate.

den Konzentrationen 5-15 festgelegt. Die mittlere Hemmgröße ist das arithmetische Mittel der Wachstumshemmung zwischen obengenannten Konzentrationen. Beispielsweise beträgt für *Aspergillus niger* der Hemmwert der Gesamtlänge aller Seitenwurzeln bei Konz. 5 = 0,34, bei Konz. 15 = 0,08 (Fig. 35c). Der Mittelwert beider Größen liegt bei 0,21. Die so erhaltenen Werte sind in den zutreffenden Hemmungsbereich der Tab. 7* eingetragen. Hieraus ist der Hemmungsgrad zahlenmäßig ablesbar und die Reihenfolge in Bezug auf den Grad der hemmenden Wirkung der Pilze erkenntlich. Da die Streuwerte bei rund ± 5 bis $\pm 10\%$ liegen, wäre eine noch feinere Unterteilung als die gewählte nicht sinnvoll. Sehr ähnlich wirkende Pilze wurden in Tabelle 7 mit einem Rahmen versehen.

An Stelle der mittleren Hemmgröße, die sich aus den Konzentrationen 5-15 ergibt, könnte man auch die Konzentrationen 2-15 betrachten, wobei man sich darüber im klaren sein muß, daß die Konz. 2 im allgemeinen eine nicht sehr starke Hemmung hervorruft und demnach alle Beobachtungen verwaschener erscheinen müssen. Diese Betrachtung ändert jedoch die weiter unten beschriebenen Ergebnisse nicht. Gleiches gilt auch für die Konzentrationen 10-15. In Tab. 8* ist lediglich die Reihenfolge der Pilze in ihrer Hemmweise auf die höhere Pflanze aufgeführt. Dabei ist zu bemerken, daß bei den Gewichten des Wurzelsystems und beim Frischgewicht des Sprosses die Hemmwerte durch die einzelnen Pilzfiltrate derart eng zusammenliegen (maximaler Unterschied in Tab. 7 nur 0,15-0,2), daß bei Berücksichtigung der Streuungen nur noch bedingt von einer Reihenfolge der Pilzfiltrate in bezug auf ihre Hemmwirkung gesprochen werden kann. Spalte 7, 8 und 10 sind deshalb mit einem Kreuzchen versehen worden. Die hier abgebildeten Tabellen geben nun Aufschluß darüber, daß die schon rein qualitative Annahme einer gewissen "verwandtschaftlichen" Beziehung in der Hemmweise der einzelnen Pilzfiltrate untereinander, quantitativ nachweisbar ist.

Um eine allgemein gültige Reihenfolge der Hemmwirkung der einzelnen Pilzfiltrate festzulegen, bezieht man sich zunächst auf das Sproßsystem (Tab. 8, Spalte 4 und 5). Dabei tritt klar zu

tage, daß *Aspergillus niger* und *Mucor racemosus* die am stärksten hemmenden Pilze sind und zwar mit überragender Wirkung von *Aspergillus niger* (Tab. 7). *Stemphylium botryosum* und *Verticillium glaucum* beeinflussen die höhere Pflanze am schwächsten. *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium herbarum* und *Blastotrichum puccinoides* nehmen in ihrer hemmenden Wirkung eine Mittelstellung ein. Diese Reihenfolge bleibt im großen und ganzen bei allen Messungen, mit Ausnahme der Spalten 3, 7, 8 und 12 erhalten. Bei Betrachtung der Gewichte in Tab. 8 (Spalte 7, 8, 10 und 11) fällt ein besonders eigentümliches Verhalten der Stoffwechselprodukte von *Mucor* und *Stemphylium* auf. Im Gegensatz zu denjenigen von *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium* und *Verticillium*, die die Reihenfolge ihrer Hemmwirkung bei Sproß- und Wurzelsystem ungefähr erhalten, hemmt *Mucor* besonders die Gewichte des Sprosses, während die Gewichte des Wurzelsystems nur geringfügig beeinflusst werden. *Stemphylium* zeigt ein genau entgegengesetztes Verhalten. Deshalb liegt die Vermutung nahe, daß *Stemphylium* entgegen seinem sonstigen Verhalten lediglich die Gewichte des Wurzelsystems stärker hemmt. Umgekehrt scheint *Mucor* in noch ausgeprägterer Weise mehr oder weniger hemmungsaktiv auf die Gewichte des Wurzelsystems zu sein. Da *Mucor* und *Blastotrichum* etwa gleichlaufen, gilt oben Gesagtes in verringertem Maße auch für *Blastotrichum*. Die auffällige Abweichung von *Stemphylium*, *Mucor* und *Blastotrichum* gegenüber allen anderen Pilzen kommt auch bei der spezifischen Länge des Sproßsystems zum Ausdruck (Tab. 8, Spalte 12).

Es fällt auf, daß *Stemphylium* und *Verticillium* in ihrer Wirkungsweise auf die höhere Pflanze sehr verwandtes Verhalten zeigen (Tab. 7 und 8). Ebenso stark tritt die Verwandtschaft zwischen *Mucor* und *Blastotrichum* einerseits, sowie *Cladosporium* und *Fusarium* andererseits zutage. So erscheinen beispielsweise in den Tab. 7 und 8 sowohl *Mucor* und *Blastotrichum* als auch *Fusarium* und *Cladosporium* bei allen Größen, mit Ausnahme der Anzahl der Seitenwurzeln n_{SW} und der Länge der einzelnen Seitenwurzel l/SW (Spalte 3 und 6) in der zahlenmäßigen Reihenfolge stets unter- bzw. nebeneinander. Dasselbe trifft auch

für *Verticillium* und *Stemphylium* zu, nur bilden hier die Hauptwurzellängen und die wurzelgewichte eine Ausnahme. Das bereits festgestellte verwandtschaftliche Verhalten der Pilzfiltrate äussert sich auch in der Feinstruktur der Kurvenbilder (Abb. 35-37)*, was besonders eindrucksvoll bei der Gesamtlänge der Seitenwurzeln zum Ausdruck kommt (Abb. 35c). Dabei soll nochmals auf den unsteten Kurvenverlauf von *Stemphylium* und *Verticillium* hingewiesen werden. Auch morphologische Übereinstimmungen sind gegeben. So zeigen die mit Filtraten von *Mucor* und *Blastotrichum* behandelten Maispflanze noch teilweise verdickte Wurzeln.

Die anfängliche Vermutung, daß auf die höhere Pflanze ähnlich wirkende Pilzfiltrate in Zusammenhang mit der Farbstoffbildung des Pilzes stünden, erwies sich als unbegründet, da z.B. *Fusarium* als sehr starker, *Cladosporium* als schwacher Farbstoffbildner ähnliche Reaktionen hervorrufen. Von den hier isolierten Pilzen kann man *Fusarium* und *Blastotrichum* als starke, *Mucor* und *Aspergillus* als mittelstarke, *Cladosporium*, *Verticillium* und *Stemphylium* als schwache Farbstoffbildner bezeichnen.

Während *Aspergillus niger* im allgemeinen stets die größten Hemmwirkungen hervorruft, verändert er beispielsweise die durchschnittliche Länge einer Seitenwurzel nur wenig, was an dem gleichartigen Abfall der Gesamtlänge aller Seitenwurzeln und der Anzahl der Seitenwurzeln liegt (Abb. 16, Seite 49). Den stärksten Abfall der Länge der einzelnen Seitenwurzel verursachen die Stoffwechselprodukte von *Cladosporium*, *Fusarium* und *Blastotrichum* (Abb. 36 d).

* Die Kurven von *Stemphylium botryosum* und *Verticillium glaucum* sind punktiert, von *Fusarium oxysporum* und *Cladosporium herbarum* gestrichelt, von *Aspergillus niger*, *Blastotrichum puccinoides* und *Mucor racemosus* ausgezogen gezeichnet.

Hemmungs- bereich zwischen Konz Su- 15cm L/L ₀ G/G ₀	Längen					Anzahl	Gewichte						
	Wurzel			Spross			Wurzel			Spross			
	1	2	3	4	5		6	7*	8*	9	10*	11	12
	HW	SW	L/SW	Sp	Bl		SW	Fr	Tr	L/G	Fr	Tr	L/G
1,1-1,2												F	
1,05-1,1												C M	
1,0-1,05												S B	
0,95-1,0	V		S	VS								V	
0,90-0,95	C			FC	VS	V							
0,85-0,90				B	FC								
0,80-0,85	S F	VS	M	M		S	BM						
0,75-0,80					MB								
0,70-0,75	M B		B			C	V						
0,65-0,70			F			B							
0,60-0,65				A		M F	S C F						
0,55-0,60													
0,50-0,55		M B	C										
0,45-0,50													
0,40-0,45	A	FC			A								
0,30-0,40													
0,20-0,30		A				A							

Tab. 7. Mittelwert der Wachstumshemmung der einzelnen Pilz-
filtrate auf das Wachstum von Mais.

A = Aspergillus n.
V = Verticillium g.
S = Stemphylium b.

B = Blastotrichum p.
F = Fusarium o.
C = Cladosporium h.

Reihenfolge der Pilze in ihrer Hemm- stärke	Längen					Anzahl	Gewichte						
	Wurzel			Spross			Wurzel			Spross			
	1	2	3	4	5		6	7*	8*	9	10*	11	12
	HW	SW	L/SW	Sp	Bl		SW	Fr	Tr	L/G	Fr	Tr	L/G
1	V	S	S	S	S	V	B	B	S	S	V	F	
2	C	V	V	V	V	S	M	M	V	V	S	M	
3	F	B	A	C	C	C	V	V	C	C	C	C	
4	S	M	M	F	F	B	C	C	F	B	F	B	
5	B	C	B	B	B	F	F	S	B	M	B	S	
6	M	F	F	M	M	M	S	F	M	F	M	V	
7	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	

Tab. 8. Reihenfolge der Pilzfiltrate in ihrer Hemmungsstärke
auf das Wachstum von Mais.

Zusammenfassung.

1. Aus Humus- und Wiesenboden wurden Pilze isoliert, bestimmt und auf verschiedenen Nährlösungen gezogen. In fast allen Fällen erwies sich die Nährlösung nach Czapek-Dox am günstigsten für die Entwicklung der Pilze.
2. Mit Ausnahme von *Aspergillus niger* und *Mucor hiemalis*, die eine Säuerung der Nährlösung hervorrufen ($p_H = 2,1$ bzw. $3,9$) wurde der p_H -Wert aller hier isolierten Pilze in den alkalischen Bereich verschoben ($p_H = 6,4 - 8,1$).
3. Von den zwölf isolierten Pilzen wurden sieben nach bestimmten Gesichtspunkten ausgewählt, auf Czapek-Dox Nährlösung je nach Entwicklungszeit verschieden lang kultiviert und die Einwirkung ihrer Stoffwechselprodukte auf das Wachstum von Gramineen untersucht.
4. Als Testpflanze diente Mais. 4 - 6 Tage alte Pflanzen wurden in Knopscher Nährlösung unter Zusatz verschiedener Konzentrationen der Pilzstoffwechselprodukte von *Aspergillus niger*, *Blastotrichum puccinoides* var. x, *Verticillium glaucum*, *Cladosporium herbarum*, *Stemphylium botryosum* var. *botrytis*, *Fusarium oxysporum* und *Mucor racemosus* gezogen. Nach neun- bis zwölftägigem Wachstum der Maispflanzen erfolgte die Auswertung der Versuche.
5. Besonders eingehend wurde die Wirkung der Pilzfiltrate von *Aspergillus niger* auf die höhere Pflanze untersucht. Der Pilz verursacht neben starker Schädigung des gesamten Längenwachstums, die mit steigender Konzentration zunimmt, auch morphologische Veränderungen. Bei höheren Konzentrationen findet ein Wachstumszuwachs der Wurzeln kaum mehr statt.
6. Trotz des stark reduzierten Längenwachstums bleibt das Trockengewicht des Wurzelsystems fast konstant. Diese Gewichtskonstanz ist wahrscheinlich auf eine vermehrte Zellteilung zurückzuführen, welche durch toxisch wirkende Substanzen ausgelöst werden kann. Darüberhinaus besteht jedoch auch die Möglichkeit, daß die Pflanze durch die auf sie

toxisch wirkenden Stoffe zu vermehrter Stoffwechsellätigkeit angeregt wird, deren Endprodukte in den Zellen gespeichert werden. Dagegen zeigt das Trockengewicht des Sprosssystems ungefähre Übereinstimmung mit dem Längenwachstum.

7. Die Kurven der Gesamtlänge der Seitenwurzeln, der Anzahl der Seitenwurzeln und der Länge des Sprosses sind vergleichbar mit einer umgekehrten Wachstumskurve und gehorchen einem Exponentialgesetz.
8. Stoffwechselprodukte mit höheren p_H -werten ($p_H = 3$ und 5), die durch kürzeres Wachstum von *Aspergillus niger* auf seinem Nährsubstrat erreicht worden waren, üben eine geringere Hemmung auf das Längenwachstum der höheren Pflanze aus.
9. Die Stoffwechselprodukte der übrigen Pilze verursachen zwar in allen Fällen eine Hemmung des Längenwachstums, die jedoch niemals die Hemmwirkung der *Aspergillus*-filtrate erreichen. Wie bei *Aspergillus niger* wird stets das Wurzelsystem bedeutend stärker gehemmt als das Sproßsystem, wobei die Seitenwurzeln die größte Schädigung aufweisen.
10. Allen Pilzfiltraten ist gemein, daß sie das Trockengewicht des Wurzelsystems nur geringfügig verändern. Das Verhältnis Frischgewicht:Trockengewicht ist nicht konstant. Dagegen sind beim Sproßsystem die Hemmungen an Frisch- und Trockengewichten im großen und ganzen gleich.
11. In der Reihenfolge der Hemmwirkung der Pilzfiltrate auf die höhere Pflanze folgt nach *Aspergillus niger* in erheblichem Abstand *Mucor racemosus*. *Verticillium glaucum* und *Stemphylium botryosum* beeinflussen das Wachstum von Mais am geringsten. *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium herbarum* und *Blastotrichum puccinoides* nehmen in ihrer hemmenden Wirkung eine Mittelstellung ein.
12. Bei den Gewichten des Wurzelsystems und bei der spezifischen Länge des Sproßsystems wird die allgemein gültige Reihenfolge der Hemmwirkung der Pilzfiltrate durch *Mucor racemosus* und *Stemphylium botryosum* wesentlich durchbrochen. Während

Mucor entgegen seinem sonstigen Verhalten die Gewichte hier kaum beeinflusst, wirkt Stemphylium nach Aspergillus niger am stärksten hemmend.

13. Verwandtschaftliches Verhalten bezüglich ihrer Hemmweise zeigen die Stoffwechselprodukte von Mucor racemosus und Blastotrichum puccinoides einerseits, Stemphylium botryosum und Verticillium glaucum andererseits, sowie Cladosporium herbarum und Fusarium oxysporum. Mit Ausnahme der Stoffwechselprodukte von Stemphylium und Verticillium fällt bei allen Pilzfiltraten eine stetige Steigerung der Hemmwirkung bei zunehmender Konzentration auf.
14. Der Farbstoffabgabe der Pilze in die Nährlösung ist bei der verwandtschaftlichen Beziehung der Pilzfiltrate in ihrer Hemmwirkung auf die höhere Pflanze keine Bedeutung beizumessen.
15. Die Hemmwirkung eines Pilzfiltrates nimmt mit zunehmendem Wachstum der höheren Pflanze ab, wie Versuche mit Blastotrichum puccinoides ergaben. Dies läßt auf einen Verbrauch bzw. Zerstörung des Hemmstoffes durch die Pflanzenwurzel schliessen. Da diese Wirkung jedoch sehr geringfügig ins Gewicht fällt, wurde sie bei allen übrigen Pilzen nicht berücksichtigt.
16. Filtrate von Fusarium oxysporum können weder durch Einwirkung auf die ganze Pflanze, noch durch bloßes Einstellen des Maissprosses in die Flüssigkeit Welkeerscheinungen hervorrufen. Sollte der Pilz, wie in der Literatur angegeben, ein Welkestoffproduzent sein, so kann es sich hier wohl nur um in Myzel lokalisiertes Enniatin A handeln. Auch ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der hier isolierte Stamm überhaupt keine Marasmine abgibt, sondern Hemmstoffe irgendwelcher anderer Art. Vielleicht spricht aber auch Mais auf Welkegifte überhaupt nicht an.

Literaturverzeichnis

- 1) Zycha . Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, Pilze II, Leipzig 1935.
- 2) Rabenhorst L. Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich u. der Schweiz. Bd.I, Pilze, IV.Abt. Phycomyceten; VII. VIII. IX.Abt. Fungi imperfecti 1892 u. 1903.
- 3) Lembke A. Ergebnisse der theoretischen und angewandten Mikrobiologie. Bd.I, Systematik d. Schimmelpilze. Verl. J. Neumann, Neudamm.
- 4) Wollenweber u. Reinking Die Fusarien. Berlin, P. Parey, 1935.
- 5) Niethammer A. Die mikroskopischen Bodenpilze. Verlag Junk, s'-Gravenhage 1937.
- 6) Wehmer C. Übergang älterer Vegetationen von Aspergillus fumigatus in "Riesenzellen" unter Wirkung angehäufter Säure. Ber.dtsch.Bot.Ges.31,1913, S.257.
- 7) Niethammer A. Weitere Beiträge über Verbreitung und Leben mikroskopischer Bodenpilze. Arch.f.Mikrob. Bd.12, H.3, 1942, S. 312.
- 8) Johann H. Influence of temperature on the morphology of Fusarium spores. Phytopath. 13,1923,S.33.
- 9) Rippel-Baldes A. Grundriß der Mikrobiologie, Springer-Verl.1952
- 10) Wehner Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze II, 144 f, Bd.VIII, 1895, S.328.
- 11) Brown W. Experiments on the Growth of Fungi on Culture Media. Ann.of.Bot.37, 1923, S. 105.
- 12) Metz O. Über Wachstum u. Farbstoffbildg. einiger Pilze unter dem Einfluß von Fe, Zn und Cu. Arch.f.Mikrob. Bd.1,H.2, 1930, S.197.
- 13) Küster E. Umwandlung von Mikroorganismen-Farbstoffen in Humusstoffe. Zeitschr.f.Pflanzenernährung, 57, 1952, S.51.
- 14) v. Plotho O. Weitere Untersuchg. zur Humusbildg. der Mikroorganismen. Zeitschr.f.Pflanzenern.55,1951, S.151.
- 15) Rippel A. und Walter K. Über den Stickstoffgehalt des Aspergillins. Biochem.Zeitschr. 186,1927,S.474.
- 16) Bernhauer N. u. Thole H. Über die Säurebildung durch Rhizopusarten. Biochem. Zeitschr. 287, 1936, S. 167.
- 17) Peters J. und Rippel-Baldes Über das Vorkommen verschiedener Rassen von Aspergillus niger van Tiegh. im Boden. Arch.f.Mikrob. Bd.14, 1949, S.203.

- 18) Schloesing Th. Recherches sur la nitrification par les ferments
organisés. Compt. rend. T. 86, 1878.
- 19) Butkewitsch Umwandlung der Eiweißstoffe durch niedere Pilze
im Zusammenhang mit einigen Bedingungen ihrer
Entwicklung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 38, 1905, S. 147.
- 20) Malfitano La proteolyse chez l'Aspergillus niger.
Ann. l'Inst. Pasteur. T. 14, 1900, S. 60.
- 21) Laurent Experiences sur la reduction des nitrats par les
vegetaux. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 4, 1890, S. 67.
- 22) Boas F. u. Leberle H. Untersuchungen über Säurebildungen bei Pilzen u.
Hefen. Biochem. Zeitschr. Bd. 95, 1919, S. 170.
- 23) Boas F. Die Bildung löslicher Stärke im elektiven Stick-
stoffwechsel. B. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 37, 1919, S. 50.
- 24) Rippel K. Quantitative Untersuchungen über die Abhängigkeit
der N-Assimilation von der H-Ionenkonzentr. bei
einigen Pilzen. Arch. f. Mikrob. Bd. 2, H. 1, 1933, S. 72.
- 25) Pfeiffer H. Elektrizität und Eiweiße. Dresden-Leipzig, 1929.
- 26) Mevius W. Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängig-
keit von der H-Ionenkonzentration. Planta, Bd. 6,
1928, S. 379.
- 27) Mevius W. u. Engel H. Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit
von d. H-Ionenkonzentration II. Planta Bd. 9, 1930.
- 28) Pirschle K. Nitrate und Ammonsalze als Stickstoffquelle für
höhere Pflanzen bei konstanter Wasserstoffionen-
konzentration. Planta, Bd. 9, 1930, S. 84.
- 29) Brenner W. Die N-Nahrung der Schimmelpilze. Zentralbl. f.
Bakt. II, Bd. 40, 1914, S. 535.
- 30) Vogel H. Die Antibiotica. Grundzüge der Chemie und Physio-
logie der mikrobiellen Hemmstoffe. Leipzig.
- 31) Boas F. Bemerkungen über konidienbildende Stoffe bei Pil-
zen. Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 37, 1919, S. 57.
- 32) Stolp H. Beiträge zur Frage der Beziehungen zwischen
Mikroorganismen und höheren Pflanzen. Arch. f.
Mikrob. Bd. 17, H. 1, 1952, S. 1.
- 33) Bernhauer K. Über die Charakterisierung der Stämme von Asper-
gillus niger auf Grund ihres biochemischen Ver-
haltens. Biochem. Z. Bd. 197, 1928, S. 278.
- 34) Kandler O. Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-Dichlor-
phenoxyessigsäure, 4-Naphtyllessigsäure, Natrium-
fluorid u. Vitamin B₁ auf den Stoffwechsel in
vitro kultivierter Maiswurzeln. Planta Bd. 42,
H. 4, 1953, S. 304.
- 35) Kandler O. Über den Einfluß von Bodenbakterien und deren
Filtraten auf das Wachstum in vitro kultivierter
Wurzeln. Arch. f. Mikrob. Bd. 15, 1951, S. 430.
- 36) Rippel A. Wachstumsgesetze der höheren u. niederen Pflan-
zen. Naturw. u. Landwirtsch. 1925, H. 3.
- 37) Schüepp O. Wachstumsmessungen an Knospen und Vegetations-
punkten. Verh. naturf. Ges. Basel 1923, H. 34.

- 38) Bukatsch F. u. Heitzer J. Beiträge zur Kenntnis der Physiologie von Azotobacter. Arch.f.Mikr.Bd.17,H.1, 1952, S.87.
- 39) Guttenberg H. u. Beythien A. Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta, Bd.40, 1951, S.36.
- 40) Linden G. Über die Wirkung wiederholter Behandlung mit subletalen Konzentrationen der 2,4-Dichlorpnen-oxyessigsäure (2,4 D) auf Sinapis alba. Beitr. z. Biol. d. Pfl. H.3, 1954.
- 41) Gerlach W. Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath.Z.Bd.22, 1954, S.176.
- 42) Gäumann E. Neuere Erfahrungen mit Welketoxinen. Experientia VII. 1951, S. 441.
- 43) Gäumann E. Naef-Roth St. u. Kobel h. Über Fusarinsäure, ein 2. Welketoxin des Fusarium lycopersici. Phyt.Z. 1952, Bd.20, S.1-
- 44) Gäumann E. Stoll u. Kern Über Vasinfuscarin, ein 3. Welketoxin des Fus. lycopersici. Phyt.Z. 1953, S. 345.
- 45) Lütke M. u. Hikmet Achmet Über einen pflanzlichen Welkestoff. Zeitschr. f. Bioch. Bd. 257, H.4, 1952.
- 46) H. Achmet Untersuchungen über Tracheomykose. Phyt.Z. Bd. 6, 1933, S.49.
- 47) Scheffer R. u. Walker J. The physiology of Fusarium wilt of tomatoes. Phytopathology 43, 1953.
- 48) Smith E.F. Wilt disease of cotton, watermelons and cowpea. U.S.-Dept.Agric.Washington Bull. 17, 1899.
- 49) Kleebahn Beiträge zur Kenntnis der Fungi imperfecti. Mycol. Zentralbl. B.III, S.49, 1913.
- 50) Schikorra G. Fusarium-Krankheit der Leguminosen. Arb.d. Kaiserl.biol.Anst.f.Land-u.Forstwirtschaft. Bd. V, 1906, S. 157
- 51) Bewley W.F. "Sleepy disease" of the tomato. Ann.Appl. Biology IX. S. 116.
- 52) Orton W.W. The wilt disease of the cowpea and its control. U.S. Dept.Agr.Bull.Plant.Ind.Bur.17. 1902, S.9.
- 53) Thomas C.A. A wilt inducing polysaccharide from Fusarium solani f. eumartii. Phytopathology 31, 1943, S. 572.
- 54) Vogel H. Die Antibiotica. Verlag Hans Carl, Nürnberg, 1951.
- 55) Gäumann E., Naef-Roth St. Ettlinger L. Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien. Phyt.Z.16, 1950, S.289.
- 56) Kalyanasundarain u. Lakshminarayana Rooting of cut shoots of cotton in kulture filtrate of fusarium vasinfectum. Nature 171, S. 1120, 1952

Lebenslauf

Als Tochter des Brauereidirektors Richard Langenmayr und dessen Ehefrau Gertraud, geb. Ade, wurde ich am 16.6.1925 in Kempten im Allgäu geboren. Nach Besuch der dortigen Volksschule und der Oberschule für Mädchen machte ich im Jahre 1944 mein Abitur. Anschließend wurde ich zum Reichsarbeitsdienst und Kriegshilfsdienst eingezogen. Im Wintersemester 1947/48 nahm ich an der naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Hamburg mein Studium auf und wechselte im Wintersemester 1950/51 an die Universität München über. 1953 begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Gistel, Direktor des Institutes für angewandte Botanik an der Technischen Hochschule München, eine experimentelle mikrobiologische Doktorarbeit. Aus finanziellen Gründen war ich gezwungen, mein Studium mehrmals zu unterbrechen.

